

REMARKS

Reconsideration and withdrawal of the objections and rejections of this application are respectfully requested in view of the remarks, amendments and attachments submitted herewith.

Claims 1-22 are pending in the present application. Claims 2, 3, 7-12 and 14-22 have been withdrawn from consideration due to a restriction requirement. Thus, claims 1, 4-6 and 13 are currently under examination.

I. SPECIFICATION

The specification was objected to for informalities. The amendments to the specification render the objection moot.

In addition, it is noted that "trastuzumab" is not a trademark. Trastuzumab is generic terminology for HERCEPTIN, and therefore "trastuzumab" should not be capitalized.

Accordingly, Applicants respectfully request withdrawal of the objections to the specification.

II. OATH OR DECLARATION

The Examiner is thanked for pointing out that the residence and post office address of Inventor Asp had been altered but that the alteration was not dated nor initiated. As Inventor Asp is not longer an employee of the assignee, Applicants are diligently trying to forward a corrected declaration to Inventor Asp for execution. A declaration is expected to follow in due course.

III. INFORMATION DISCLOSURE STATEMENT

The Applicants appreciate the Examiner's note that the file does not contain a copy of a translation of items 20 and 26 on the Information Disclosure Statement. Enclosed is a copy of references 20 and 26, which contain an abstract in English.

IV. THE REJECTION UNDER 35 U.S.C. § 112, FIRST PARAGRAPH

Claim 13 was rejected as allegedly failing to comply with the enablement requirement under 35 U.S.C. § 112, first paragraph. The Examiner asserts that the claims contain subject matter which was not described in the specification in such a way as to enable one skilled in the art to which it pertains, or with which it is mostly nearly connected, to make and/or use the invention. The rejection is traversed.

The Examiner asserts that the claimed invention is not enabled because it was unknown whether trastuzumab was cardiotoxic:

“[s]ince it was unknown whether or not trastuzumab was cardiotoxic, it could not be predicted that dexrazoxane would have any effect on trastuzumab-associated toxicity . . . the specification provides insufficient guidance with regard to these issues and provides no working examples which would provide guidance to one skilled in the art and no evidence has been provided which would allow one of skill in the art to predict that the claimed invention would function as claimed with a reasonable expectation of success.”

(Office Action, at 10).

Applicants respectfully disagree. The subject specification provides the following information to enable the full scope of claim 13—a method for ameliorating cardiotoxic effects caused by trastuzumab when administered alone, which comprises administering an effective amount of dexrazoxane—which is described in the bridging paragraph of pages 4-5.

Applicants found that trastuzumab administered alone, contrary to the Examiner’s contention, was cardiotoxic based on clinical data. Page 2, lines 18-20. Support for this assertion is also found in the package insert for Herceptin. Specifically, Herceptin administration can result in the development of ventricular dysfunction and congestive heart failure, *e.g.* left ventricular function. *See* attached Herceptin package insert, page 1.

The conditions for administering an effective amount of dexrazoxane to ameliorate cardiotoxic effects caused by trastuzumab when administered alone is described on page 6, line 12 through page 9, line 21, which provides a protocol scheme to determine the effectiveness of dexrazoxane and the dose levels to ameliorate cardiotoxicity.

Section 112 requires that a specification contain a written description of the manner and process of making and using the invention in such full, clear, concise and exact terms as to enable any person skilled in the art to make and use the same. In accordance with the statute, Applicants submit that the subject specification fully supports and enables the pending claims.

The test of enablement is whether one skilled in the art could make or use the invention relying on the disclosure in the patent coupled with information known in the art without undue experimentation. *U.S. v. Telectronics, Inc.* 8 USPQ2d 1217, 1223 (Fed. Cir. 1988); M.P.E.P. § 2164.01. The appropriate factors to elucidate whether undue experimentation is present may include: (1) the nature of the invention, (2) the state of the

prior art, (3) the level of predictability in the art, (4) the amount of direction or guidance present, (5) the existence of working examples, (6) the breadth of the claims, (7) the quantity of experimentation needed to make or use the invention based on the content of the disclosure, and (8) the level of one of ordinary skill in the art. *In re Wands*, 8 USPQ2d 1400, 1404 (Fed. Cir. 1988).

Applicants have submitted an enabling disclosure including a method for ameliorating cardiotoxic effects caused by trastuzumab when administered alone, which comprises administering an effective amount of dexrazoxane. It is the Applicants' position that the disclosure of the specification teaches a person skilled artisan to make and use the invention without undue experimentation. Particularly relevant are the following *Wands* factors:

Nature of the invention

The subject matter of claim 13 relates to a method for ameliorating cardiotoxic effects caused by trastuzumab when administered alone. As mentioned above, Applicants found that trastuzumab administered alone, contrary to the Examiner's contention, was cardiotoxic based on clinical data. Page 2, lines 18-20. Support for this assertion is found on page 1 of the attached Herceptin package insert.

State of the prior art

Applicants submit that claim 13 relates to administering a known compound, dexrazoxane, for ameliorating cardiotoxic effects caused by a known compound, trastuzumab, when administered alone. Applicants therefore submit that the Examiner's contention that the specification does not provide enablement for the administration of the two compounds is unsupported. The making and use of the individual compounds were known in the art.

The amount of direction or guidance provided and the absence of working examples

The Examiner asserts that the "specification provides insufficient guidance with regard to these issues and provides no working examples which would provide guidance to one skilled in the art . . ." (*Office Action*, at 10-11). Applicants submit that working examples are not required to show enablement. *See, e.g.*, MPEP § 2164.02. Further, the specification provides guidance to one of ordinary skill in the art as to the dosages useful for ameliorating cardiotoxic effects caused by trastuzumab when administered alone. *See*, Page 5. Moreover, a protocol scheme is provided to determine the effectiveness of dexrazoxane. Thus, Applicants submit that the specification as filed provides abundant support and instruction to teach those

skilled in the art how to practice the invention. Applicants submit that the Examiner has not articulated any reason why one of skill in the art could not prepare the claimed compounds, identify the activity of compounds within the claims, formulate the claimed compounds into a pharmaceutical composition and administer it to a patient, based on the specification as filed. In the absence of any such evidence, Applicants respectfully request that the Examiner remove the rejection.

The breadth of the claims and the quantity of experimentation necessary

The Examiner did not address the breadth of the claims. The breadth of the claims relate to the administration to administering a known compound, dexrazoxane, for ameliorating cardiotoxic effects caused by a known compound, trastuzumab, when administered alone. Accordingly, those skilled in the art would be able to use the invention based on the breadth of the claims and the content of the disclosure without undue experimentation. Applicants respectfully submit that there is no difficulty in reducing the invention to practice without undue experimentation, and therefore, the claims are enabled.

Relative skill in the art

The Examiner did not address the relative skill in the art. The relative skill in the art is high. The methods of making trastuzumab and dexrazoxane are known as well as the doses for treating cancer and for treating cardiotoxicity, respectively. Applicants submit that claim 13 relates to the use of two compounds known in the art and it should be acknowledged that the level of skill in the art is very high.

In summary, an examination of the *Wands* factors weighs heavily in favor of a finding that the present claims are fully enabled by the instant specification. Objectively, the specification teaches one skilled in the art how to make and use the invention. The Applicants have complied with the statutory requirements of § 112. Applicants, therefore, request that the Examiner withdraw the rejection under 35 U.S.C. § 112, first paragraph.

V. THE REJECTION UNDER 35 U.S.C. § 103

Claims 1 and 4-6 were rejected under 35 U.S.C. § 103 as unpatentable over Norton et al. (25th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology, 1999, 18:127) (“Norton”) in view of Swain et al. (J. Clinical Oncology, 1997, 15:133-1340) (Swain”). The rejections are traversed.

Claims 1 and 4-6 are directed to a method for treating a cancer, which comprises administering a therapeutically effective amount of trastuzumab to a patient in need thereof, in combination with an amount of dexrazoxane effective to ameliorate cardiotoxicity.

Norton relates to a “multicenter controlled trial in 469 patients with HER2+ [overexpression] MBC [metastatic breast cancer] randomly added H [Herceptin] to doxorubicin and cyclophosphamide (AC) or . . .” (Abstract). However, as the Examiner notes, the reference does not teach the addition of dexrazoxane to ameliorate cardiotoxicity associated with Herceptin administration. In fact, Norton does not disclose, suggest or teach that Herceptin is associated with cardiotoxicity at all.

Swain does not remedy the inherent deficiencies in Norton. Swain relates to two multicenter studies in which patients were randomized to receive fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide (FAC) and placebo versus FAC and dexrazoxane. Swain does not disclose, suggest or teach the addition of dexrazoxane effective to ameliorate cardiotoxicity associated with Herceptin administration. In addition, as with Norton, Swain does not disclose, suggest or teach that Herceptin is associated with cardiotoxicity.

The Examiner is respectfully reminded that “obvious to try” is not the standard for forming a *prima facie* case of obviousness under 35 U.S.C. § 103. *In re Fine*, 5 USPQ2d 1596, 1599 (Fed. Cir. 1988). Also, the Examiner is additionally respectfully reminded that for the Section 103 rejection to be proper, both the suggestion of the claimed invention and the expectation of success must be found in the art and not the Applicant’s disclosure. *In re Vaack*, 20 USPQ2d 1438 (Fed. Cir. 1991).

In the present case, the Examiner only provides that “[o]ne would have been motivated to have combined the methods of Norton et al and Swain et al and to administer dexrazoxane combination with trastuzumab because Swain et al specifically teach the doxorubicin causes cumulative, dose-related progressive myocardial damage that may compromise cardiac function and that Dexrazoxane (DZR) ameliorates the cardiomyopathy associated with anthracyclines, in particular doxorubicin. (*Office Action*, at 11-12). But, as mentioned above, both references do not disclose, teach or suggest that dexrazoxane may be used to ameliorate cardiotoxicity associated with Herceptin. In fact, neither reference teaches that Herceptin is associated with cardiotoxicity.

Accordingly, it is the Applicants' position that there is no motivation, based on the disclosure of Norton and/or Swain, for a person of ordinary skill in the art to arrive at the presently claimed invention. And, even if the Norton and Swain were combined, they do not lead to the presently claimed invention. Accordingly, the presently claimed invention is not rendered obvious by the disclosure of the Norton and/or Swain.

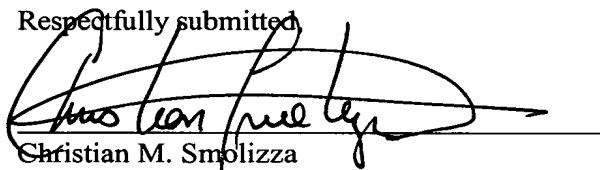
In view of the above, Applicant respectfully requests the Examiner to withdraw the present rejection, and allow pending claims 1 and 4-6.

CONCLUSION

In view of the remarks, amendments and attachments herewith, the application is in condition for allowance. Favorable reconsideration of the application and prompt issuance of a Notice of Allowance are earnestly solicited.

Date: November 18, 2004

Respectfully submitted,



Christian M. Smolizza
Attorney for Applicants
Reg. No. 46,319

Pfizer Inc.
Patent Department, 5th Floor
150 East 42nd Street
New York, NY 10017-5755
(212) 733-9094

Anthrazykline und Herceptin® als neue Therapieoption beim metastasierten Mammakarzinom

M. Untch · C. Crohns · S. Kahlert · H. Hepp

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Klinikum Großhadern, Ludwig-Maximilians-Universität, München

Schlüsselwörter

Anthrazykline · Herceptin · Metastasiertes Mammakarzinom · Kardiotoxizität

Zusammenfassung

Die Therapie mit dem humanisierten monoklonalen Antikörper Trastuzumab (Herceptin) führte beim metastasierenden Mammakarzinom mit Überexpression des Proto-onkogens *HER-2/neu* zu beachtlichen Therapieerfolgen in der Monotherapie. Höhere Remissionsraten wurden jedoch in Kombination mit einer Chemotherapie, wie Doxorubicin/Cyclophosphamid und Paclitaxel, erzielt. Ein bisher ungelöstes Problem ist allerdings die Kardiotoxizität, die von Herceptin in Verbindung mit Doxorubicin ausgeht. In neueren Studien wird deshalb nach gleich wirksamen, aber besser tolerierten Kombinationen gesucht. Als vielversprechende Kombinationspartner von Herceptin werden dabei Epirubicin, die Taxane Paclitaxel und Docetaxel, Navelbine®, Cisplatin sowie Caelyx®, die liposomal verkapselte Formulierung von Doxorubicin, in der First-line-Therapie geprüft.

Key Words

Anthracyclines · Herceptin · Metastatic breast cancer · Cardiotoxicity

Summary

Single-agent treatment with the humanized monoclonal antibody trastuzumab (herceptin) has shown remarkable activity in patients with metastatic breast cancer overexpressing the *HER-2/neu* proto-oncogene. Further significant advances could be achieved with the combined use of herceptin and paclitaxel or doxorubicin/cyclophosphamide. However, cardiotoxicity remains a significant and thus far unresolved problem of the herceptin-doxorubicin combination. Thus, several studies have recently been initiated to identify equally effective but less toxic first-line regimens. Epirubicin, the taxanes paclitaxel and docetaxel, Navelbine®, cisplatin, and Caelyx®, a liposomal encapsulated formulation of doxorubicin, were selected for combination with herceptin in these studies because they appeared the most promising agents.

Aktuelle Datenlage

Anthrazykline gehören zu den aktivsten Substanzen in der Therapie des metastasierten Mammakarzinoms. Als Einzelsubstanz können in der First-line-Therapie Remissionsraten zwischen 40 und 60% erwartet werden, in der Second-line-Therapie immerhin noch zwischen 25 und 38%. Die Kombination von Anthrazyklinen mit einem Alkylanz oder einem Taxan ist mittlerweile Standardtherapie beim nichtanthrazyklinvorbehandelten metastasierten Mammakarzinom. Eine

besondere Nebenwirkung der Anthrazykline ist ihre potenzielle Kardiotoxizität. Die empfohlene kumulative Höchstdosis für Epirubicin liegt bei 900–1000 mg/m² Kumulativdosis.

Biologische Therapie mit Herceptin®

In etwa 25–30% aller Mammakarzinome kann die Überexpression des Protoonkogens *c-erbB-2* (*HER-2/neu*) nachgewiesen werden. HER-2 steht für «human epidermal growth

KARGER

© 2000 S. Karger GmbH, Freiburg

Fax +49 761 4 52 07 14

E-mail Information@Karger.de

www.karger.com

Accessible online at:

www.karger.com/journals/onk

PD Dr. med. M. Untch

Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Klinikum Großhadern

Ludwig-Maximilians-Universität

Marchioninistraße 15

Tab. 1. Wirksamkeit einer Monotherapie mit Herceptin in der Second- und Third-line-Therapie des metastasierten Mammakarzinoms mit Überexpression von HER-2/neu [5]

Parameter	Alle Patienten	Expressionsgrad von HER-2/neu		p-Wert
		2+	3+	
Gesamtansprechrate, %	15	6	18	0,6
Progressionsfreies Intervall (Median), Monate	3,1	1,9	3,3	0,003
Gesamtüberleben (Median), Monate	13			
Remissionsdauer (Median), Monate	9,1			

Tab. 2. Ergebnisse der randomisierten Studie H0648 [6, 7] zur Therapie des metastasierten Mammakarzinoms mit einer Kombination von Chemotherapie und dem HER-2-Rezeptorantikörper Herceptin als palliative First-line-Therapie

	Paclitaxel + Herceptin (n = 92)	Paclitaxel alleine (n = 96)	p-Wert	AC + Herceptin (n = 143)	AC alleine (n = 138)	p-Wert
Progressionsfreies Intervall	6,7 Monate	2,5 Monate	<0,001	7,6 Monate	5,7 Monate	0,002
Ansprechrate	38%	15%	<0,001	50%	38%	0,1
Remissionsdauer	8,3 Monate	4,3 Monate		8,4 Monate	6,4 Monate	
1-Jahres-Überlebensrate	73%	61%	0,08	83%	73%	0,04

factor receptor». Die Überexpression ist häufig mit einem rasch progredienten und metastasierenden Verlauf des Mammakarzinoms korreliert. Eine Assoziation mit prognostisch ungünstigen Faktoren, wie positiver Nodalstatus, negativer Hormonrezeptor-Status, erhöhte S-Phase-Fraktion und höheres Kern-Grading wurde beschrieben [1]. Für die Therapie von Patientinnen mit HER-2-überexprimierendem Mammakarzinom steht seit kurzer Zeit ein monoklonaler Antikörper (Trastuzumab, Herceptin) zur Verfügung, der gegen die extrazelluläre Domäne des Wachstumsfaktor-Rezeptors gerichtet ist. Herceptin ist ein sogenannter humanisierter Antikörper. In vitro konnte bisher nur ein «zytostatischer» Effekt von Herceptin nachgewiesen werden. Untersuchungen in vivo zeigten hingegen, dass Herceptin in Gegenwart peripherer mononukleärer Zellen eine antikörperabhängige zelluläre Zytotoxizität gegen Tumorzellen induziert. Darüber hinaus steigert Herceptin die Wirkung von Zytostatika. Durch die Blockierung des Wachstumsfaktor-Rezeptors c-erbB-2 mit Herceptin kommt es auch zu einer Hemmung der DNA-Reparaturmechanismen und somit zu einer Potenzierung der zytotoxischen Wirkung. Über eine synergistische Wirkung wurde z.B. in Kombination mit Cisplatin berichtet [2].

Die klinische Wirksamkeit des humanisierten Antikörpers wurde inzwischen in Phase-II- und -III-Studien überprüft. Hierbei wurden Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom und immunhistochemisch nachgewiesener Überexpression des c-erbB-2-Onkogens (2+ und 3+) behandelt. Baselga et al. [3] veröffentlichten 1996 die Daten einer Studie mit 46 Patientinnen in der Third-line-Therapie. Bei einer wöchentlichen Gabe von 100 mg/m² Herceptin i.v. konnte eine Komplettremission, 4 partielle Remissionen und 16 stabile Erkrankun-

gen erreicht werden. Vogel et al. [4] konnten 1998 in einer weiteren Studie für die First-line-Herceptin-Monotherapie des metastasierten Mammakarzinoms an 112 Patientinnen Remissionsraten von 22% (initiale Aufsättigungsdosis 8 mg/kg KG, Erhaltungsdosis 4 mg/kg KG) bzw. von 24% (initiale Aufsättigungsdosis 4 mg/kg KG, Erhaltungsdosis 2 mg/kg KG) zeigen. In der Subgruppe der Patientinnen mit einer Überexpression von 3+ erreichte man sogar eine Remissionsrate von 31%. Insgesamt gelangten 6 Patientinnen in eine komplette und 20 in eine partielle Remission, bei einer Remissionsdauer von 8,4 Monaten. Die hämatologische Toxizität unter Monotherapie war gering und trat in weniger als 5% der Fälle auf. Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerz und Diarrhö wurden bei etwa 20% der Patientinnen beobachtet. Diese Nebenwirkungen waren mit Standardmedikation gut zu behandeln. Eine Kardiotoxizität wurde in der Monotherapie bei 1–3% der behandelten Patientinnen beobachtet. Die aufgetretenen Komplikationen waren nach Absetzen von Herceptin wieder komplett reversibel.

Cobleigh et al. [5] zeigten 1999 an 222 Patientinnen (Altersmedian 50 Jahre) in der Second- oder Third-line-Therapie des metastasierten Mammakarzinoms, dass mit Herceptin als Monotherapie eine Remissionsrate von 15% erreicht werden kann (8 Komplettremissionen und 26 partielle Remissionen). Es wurde mit einer initialen Aufsättigungsdosis von 4 mg/kg KG und einer wöchentlichen Erhaltungsdosis von 2 mg/kg KG behandelt. Die mediane Remissionsdauer betrug 9,1 Monate und die mediane Überlebenszeit 13 Monate. Bei einer c-erbB-2-Überexpression von 3+ war die Ansprechrate mit 18% deutlich besser als bei einer schwachen Überexpression (2+) mit einer Ansprechrate von 6% (Tab. 1). Diese Behand-

Tab. 3. Ergebnisse der randomisierten Studie H0648 beim metastasierten Mammakarzinom in Abhängigkeit von der *HER-2*-Überexpression

<i>HER-2</i> -Überexpression	Ansprechrate, %									
	Herceptin alleine ^a		Paclitaxel + Herceptin		Paclitaxel alleine		AC + Herceptin		AC alleine	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
2+	2/50	4	5/24	21	3/19	16	14/35	40	18/42	43
3+	29/172	17	30/68	44	11/77	14	57/108	53	35/96	36
	Progressionsfreies Intervall (Median), Monate									
	Herceptin alleine		Paclitaxel + Herceptin		Paclitaxel alleine		AC + Herceptin		AC alleine	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
2+	k.A.		4,4		3,2		7,6		7,1	
3+	k.A.		7,1		2,2		7,3		4,9	

^aDaten aus Cobleigh et al. [5].

lungsergebnisse müssen vor dem Hintergrund der äußerst ungünstigen prognostischen Ausgangssituation der Patientinnen gesehen werden. Bei 28% der Patientinnen war ein metastasenfreies Intervall von weniger als 12 Monaten vorausgegangen. 69% der Patientinnen waren chemotherapeutisch adjuvant vorbehandelt. In 32% der Fälle war in der metastasierten Situation bereits eine Chemotherapie verabreicht worden und in 68% zwei oder mehr Regimes. 9% der Patientinnen waren mit einer Hochdosis-Therapie vorbehandelt worden. Bemerkenswert ist, dass die Patientinnen in dieser Studie bezüglich aller Ergebnisparameter signifikant besser ansprachen als auf die zuletzt durchgeführte Chemotherapie im metastasierten Stadium. Diese Studie erbrachte den eindrucksvollen Beweis, dass die biologische Therapie mit einem Antikörper, der gegen ein Onkogen bzw. einen Wachstumsfaktor-Rezeptor auf der Zelloberfläche gerichtet ist, zu klinisch überzeugenden Ergebnissen führen kann.

Unerwartet war in dieser wie in anderen Herceptin-Studien die auftretende Kardiotoxizität. In der Studie von Cobleigh et al. [5] traten 10 kardiale Ereignisse auf (Inzidenz 4,7%), davon 9 bei anthrazyklinvorbehandelten Patientinnen. Eine ältere Patientin verstarb an einer ventrikulären Arrhythmie.

Chemotherapie plus Herceptin

In der multinationalen randomisierten Phase-III-Studie H0648 [6, 7] wurde untersucht, welchen Effekt Herceptin besitzt, wenn es in der First-line-Therapie des metastasierten, *HER-2/neu*-überexprimierenden Mammakarzinoms zusätzlich zu einer Chemotherapie verabreicht wird. Insgesamt 469 Patientinnen erhielten entweder die Kombination Doxorubicin/Cyclophosphamid (AC) 60/600 mg/m² mit oder ohne Herceptin bzw. Paclitaxel 175 mg/m² mit oder ohne Herceptin. Patientinnen mit adjuvanter Anthrazyklinvorbehandlung wurden ausschließlich den beiden Paclitaxel-Armen zugeordnet. Die

Behandlung bestand aus jeweils 6 Zyklen alle 3 Wochen. Herceptin wurde mit 4 mg/kg als Initialdosis, danach jede Woche mit 2 mg/kg i.v. als Erhaltungsdosis verabreicht.

Die Ergebnisse dieser Studie führten schließlich zur Zulassung von Herceptin in den USA, denn sie zeigten, dass die Kombination von Chemotherapie und Herceptin das Überleben der Patientinnen signifikant verlängert. Die neueste Auswertung für die verschiedenen Therapiearme (Tab. 2) ergab eine Remissionsrate von 50% für die Kombination AC plus Herceptin, während im Kontrollkollektiv mit AC alleine eine Ansprechrate von 38% erreicht wurde ($p = 0,10$). Das mediane progressionsfreie Intervall lag bei 7,6 versus 5,7 Monaten ($p = 0,002$). Auch die 1-Jahres-Überlebensrate war im Kombinationsarm mit 83% signifikant höher als bei der Therapie mit AC alleine mit 73% ($p = 0,04$). Bei den mit Paclitaxel behandelten Patientinnen erhöhte Herceptin die Ansprechrate von 15% auf 38% ($p < 0,001$), verlängerte das progressionsfreie Intervall von 2,5 auf 6,7 Monate ($p < 0,001$) und steigerte die 1-Jahres-Überlebensrate von 61% auf 73% ($p = 0,08$).

Die Auswertung der Ergebnisse in Abhängigkeit von der *HER-2*-Expression lässt erkennen, dass im Wesentlichen nur die Patientinnen mit einer sehr starken Überexpression (3+) von der zusätzlichen Behandlung mit Herceptin profitieren (Tab. 3). In die Tabelle wurden zum Vergleich auch die Daten von Cobleigh et al. [5] mit der Herceptin-Monotherapie aufgenommen, die die gleiche Wirkungsdifferenzierung aufwiesen.

Bei der Bewertung der Herceptin-Behandlungsdaten sollte ein grundsätzliches Problem, nämlich die Zuverlässigkeit der Tests zur semiquantitativen Messung der *HER-2*-Expression in den Tumorgewebeschnitten, berücksichtigt werden. Das Ergebnis der gewöhnlich verwendeten Immunfluoreszenz-Tests wird mit Referenzstandards verglichen und entsprechend in Score-Werten von 0 bis 3+ ausgedrückt. Werte von 2+ und 3+ galten bislang für klinische Zwecke als positiv. Die Spezifität des von der Food and Drug Administration (FDA)

Tab. 4. Kardiotoxizität in den Herceptin-Studien (% der Patientinnen)

	Herceptin alleine (= 213)	Paclitaxel + Herceptin (= 91)	Paclitaxel alleine (= 95)	AC + Herceptin (= 143)	AC alleine (= 135)
Kardiotoxizität, alle Grade	7	11	1	28	7
Kardiotoxizität, WHO-Grad 3-4	5	4	1	19	3

Tab. 5. Design der internationalen Caelyx-Studie zur First-line-Therapie des metastasierten, *HER-2/neu*-positiven Mammakarzinoms

	Anzahl der Patienten	Caelyx	Paclitaxel	Herceptin
Phase II	30	30 mg/m ²	175 mg/m ² q3w × 6	2 mg/kg/Woche × 18 Wochen
Phase III	300	30 mg/m ²	175 mg/m ² q3w × 6	2 mg/kg/Woche × 18 Wochen
Arm A		–	175 mg/m ² q3w × 6	2 mg/kg/Woche × 18 Wochen
Arm B				

zugelassenen HercepTests der Firma DAKO (Carpinteria, CA, USA) (die den Antikörper A0485 enthält) ist durch neuere Untersuchungen allerdings in Frage gestellt worden [8]. Möglicherweise ergibt dieser Test in einigen Fällen ein falsch-positives Ergebnis.

Sollte Herceptin demnächst in größerem Maßstab in Studien oder in der klinischen Praxis eingesetzt werden, so erscheint es in Zweifelsfällen, etwa bei einem Score von 2+ im Hercep-Test, sinnvoll zu sein, eine Bestätigung des Testergebnisses mit einer Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) zu suchen.

Kardiotoxizität von Herceptin

Der Entstehungsmechanismus der kardialen Toxizität ist bisher noch ungeklärt. Auch lässt sich noch nicht beurteilen, ob die Vorbehandlung mit einem Anthrazyklin die Kardiotoxizität von Herceptin begünstigt, da in der Cobleigh-Studie [5] praktisch alle Patientinnen (94%) zuvor bereits Anthrazykline erhalten hatten. In jedem Fall empfiehlt sich unter einer Behandlung mit Herceptin eine regelmäßige Kontrolle der Herzfunktion mittels Echokardiographie oder MUGA-Scan. Slamon et al. [6] beschrieben 1998 in der Gruppe, die mit Herceptin in Kombination mit AC behandelt wurde, bei 28% der Patientinnen eine Kardiotoxizität (Grad 3-4 in 19% der Fälle) (Tab. 4). Bei zwei Drittel der Betroffenen entwickelte sich eine behandlungsbedürftige Herzinsuffizienz. Die kardiale Symptomatik besserte sich zwar in 87% der Fälle, doch in 3% der Fälle wurde keine Besserung der Herzinsuffizienz beobachtet, und in 10% der Fälle war die Herzinsuffizienz sogar trotz Behandlung progredient. Unter der Monotherapie mit Herceptin kam es bei 7% der Patienten zu einer kardialen Toxizität, die in 5% Grad 3-4 erreichte. In Kombination mit Paclitaxel war die Inzidenz etwa gleich hoch.

Diese Daten lassen es fragwürdig erscheinen, Patientinnen in der palliativen Situation die Kombination von AC und Herceptin anzubieten. Entsprechend sprach sich auch die FDA in ihrer Zulassung von Herceptin für die Kombination mit Paclitaxel aus.

Neue Kombinationen mit Herceptin

Aufgrund der erheblichen Kardiotoxizität der Herceptin-Doxorubicin-Kombination setzt die Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) in ihrer neuesten Studie zur First-line-Therapie des metastasierten, *HER-2/neu*-positiven Mammakarzinoms Herceptin in Kombination mit Epirubicin/Cyclophosphamid (EC) ein. Es werden 6 Zyklen EC in 3-wöchigen Intervallen verabreicht, wobei Epirubicin in der ersten Phase der Studie in einer Dosierung von 60 mg/m² eingesetzt wird. Die Patientinnen dürfen nicht mit Anthrazyklinen vorbehandelt sein und werden engmaschig kardiologisch überwacht. In einer geplanten zweiten Studienphase wird die Epirubicin-Dosis dann nach Möglichkeit auf 90 mg/m² erhöht. In einer geplanten, großangelegten Studie, an der sich international verschiedene Zentren beteiligen, werden in einem weiteren innovativen Therapieansatz das Taxan Paclitaxel und die liposomale Formulierung von Doxorubicin (Caelyx®) als Kombinationspartner von Herceptin eingesetzt (Tab. 5). Caelyx zeichnete sich in Phase-I/II-Studien durch eine ähnliche Wirksamkeit wie Doxorubicin aus. Ein wesentlicher Vorteil liegt in der praktisch fehlenden Kardiotoxizität, so dass sich die Kombination mit Herceptin geradezu anbietet. In der Studie werden Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom und Überexpression von *HER-2/neu* in der First-line-Therapie behandelt. Eine adjuvante Anthrazyklinvorbehandlung wird vom Protokoll ausgeschlossen. Im Phase-II-Abschnitt dieser Studie erhalten zunächst 30 Patientinnen 6

Chemotherapiezyklen Caelyx/Paclitaxel alle 3 Wochen zusammen mit wöchentlichen Dosen von Herceptin. Besonderes Augenmerk gilt in dieser Pilotstudie der Kardiotoxizität. In der anschließend geplanten randomisierten Phase-III-Studie mit zwei parallelen Studienarmen wird Caelyx/Paclitaxel/Herceptin mit Paclitaxel/Herceptin ohne Caelyx verglichen werden.

Die Kombination eines Taxans mit Herceptin erwies sich bisher als eine äußerst wirksame Therapie des metastasierten Mammakarzinoms. Auf dem ASCO-Meeting 1999 berichteten Fornier et al. [9] für 42 Patientinnen, die mit Paclitaxel und Herceptin behandelt wurden, eine Ansprechrate von 71%. Paclitaxel wurde wöchentlich in Dosen von 90 mg/m² (3 Blöcke zu 8 Wochen, dazwischen 2 Wochen Therapiepause), Herceptin ebenfalls wöchentlich bis zur Progression verabreicht. Eine ähnliche Studie wurde im September 1999 von der AGO eingeleitet. Dabei wird Docetaxel in der First-line-Therapie bei adjuvant anthrazyklinvorbehandelten Patientinnen mit Herceptin kombiniert. Docetaxel wird entweder auch wöchentlich (35 mg/m²/Woche in 3 Blocks zu 6 Wochen) oder in einer Dosierung von 100 mg/m² alle 3 Wochen insgesamt 6–8-mal verabreicht, jeweils mit Herceptin bis zur Progression. Da Anthrazykline zunehmend Eingang in die adjuvante

Therapie finden, wird man in Zukunft vermehrt auf solche wirksamen und nichtkardiotoxischen Kombinationen angewiesen sein.

Fazit und Zukunftsperspektiven

Nach den bisherigen Erfahrungen sind Herceptin und Anthrazykline in der palliativen Behandlung des metastasierten Mammakarzinoms bei nachgewiesener Überexpression des Onkogens *c-erbB-2* (*HER-2/neu*) eine effektive Therapie. Die Kardiotoxizität ist dabei aber eine ernst zu nehmende Nebenwirkung, die eine strenge Indikationsstellung und eine engmaschige Kontrolle der Herzfunktion erfordert. Anstelle von Doxorubicin kann auf das weniger kardiotoxische Epirubicin zurückgegriffen werden, aber auch Caelyx, die liposomal verkapselte Formulierung von Doxorubicin, bietet infolge ihrer praktisch fehlenden Kardiotoxizität eine sehr interessante Perspektive für die Kombinationstherapie mit Herceptin. Entsprechende Studien sind angelaufen. Sollte sich die Wirksamkeit bestätigen lassen, ist der Einsatz dieser neuen Therapien auch in der neoadjuvanten Situation beim lokal fortgeschrittenen Mammakarzinom sinnvoll.

Literatur

- Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL: Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the *HER-2/neu* oncogene. *Science* 1987;235:177–182.
- Pegram MD, Lipton A, Hayes DF, Weber BL, Baselga JM, Tripathy D, Baly D, Baughman SA, Twaddell T, Glaspy JA, Slamon DJ: Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti-p185HER2/neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with *HER2/neu*-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol* 1998;16:2659–2671.
- Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L: Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with *HER2/neu*-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1996;14:737–744.
- Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L: Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with *HER2/neu*-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 1996;14:737–744.
- Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, Robert NJ, Scholl S, Fehrenbacher L, Wolter JM, Paton V, Shak S, Lieberman G, Slamon DJ: Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have *HER2*-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 1999;17:2639–2648.
- Slamon D, Leyland-Jones B, Shak S, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Baselga J, Norton L: Addition of herceptin (humanized anti-HER2 antibody) to first-line chemotherapy for *HER2* overexpressing metastatic breast cancer (*HER2*+/*MBC*) markedly increases anticancer activity: A randomized, multinational controlled phase III trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998;17:377(abstrakt).
- Norton L, Slamon D, Leyland-Jones B, Wolter J, Fleming T, Eiermann W, Baselga J, Mendelsohn J, Bajamonde A, Ash M, Shak S: Overall survival (OS) advantage to simultaneous chemotherapy (CRx) plus the humanized anti-HER2 monoclonal antibody Herceptin (H) in *HER2*-overexpressing (*HER2*+) metastatic breast cancer (MBC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999;18:483(abstrakt).
- Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, Barnes MJ, Schnitt SJ: Specificity of HercepTest in determining *HER-2/neu* status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration-Approved scoring system. *J Clin Oncol* 1999;17:1983–1987.
- Fornier M, Seidman AD, Esteva FJ, Theodoulou M, Moynahan M, Currie V, Moasser M, Sklarin N, Gilewski T, Surbone A, Denton C, Bacotti D, Willey J, Bach A, Reuter V, Hortobagyi G, Norton L, Hudis C: Weekly (W) herceptin (H) + 1 hour taxol (T): Phase II study in *HER2* overexpressing (*H2*+) and non-overexpressing (*H2*-) metastatic breast cancer (MBC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1999;18:482(abstrakt).

Rassegna

DEXRAZOXANE

Attualità e prospettive nella protezione dalla cardiotoxicità indotta da chemioterapia

M. Lopez

Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori, Roma, Italia

Riassunto

Obiettivo: Valutare l'efficacia del dexrazoxane (Cardioxane®) nella protezione dalla cardiotoxicità indotta dalla chemioterapia antitumorale.

Disegno: È stata eseguita una revisione dei più significativi studi sperimentali e clinici.

Risultati: Il dexrazoxane si è dimostrato molto utile nel ridurre la tossicità cardiaca indotta da antracicline. Si ritiene che il meccanismo d'azione sia correlato alla capacità del farmaco di chelare il ferro libero e legato, riducendo così la formazione di complessi antraciclina-ferro e la successiva generazione di radicali liberi tossici per il tessuto cardiaco. La maggior parte degli studi clinici è stata condotta in pazienti con carcinoma mammario metastatizzato. È stato evidenziato che il dexrazoxane: 1) riduce significativamente l'incidenza globale di eventi cardiaci, indipendentemente dalla presenza di fattori di rischio cardiaci; 2) sembra non interferire con l'attività delle antracicline; 3) non aumenta l'incidenza degli eventi tossici non cardiaci della chemioterapia; 4) riduce la cardiotoxicità in pazienti pediatrici trattati con antracicline; 5) ha un rapporto costo: beneficio favorevole in termini economici.

Conclusioni: Il dexrazoxane è un farmaco di sicura utilità nel migliorare la cardiotoxicità da antracicline sia in pazienti adulti che pediatrici. In quest'ultimo gruppo di pazienti resta da dimostrare se la protezione si verifica anche nei confronti della tossicità tardiva. Il farmaco dovrebbe essere sempre usato, preferibilmente fin dall'inizio del trattamento chemioterapico, allorché si prevede di raggiungere una dose cumulativa di doxorubicina ≥ 300 mg/m² o di epirubicina 480 mg/m².

Parole chiave: Antracicline, cardioprotezione, cardiotoxicità, dexrazoxane

Introduzione

Fin dall'iniziale sperimentazione clinica avvenuta nel 1968 (1), l'adriamicina (doxorubicina), un antibiotico antitumorale appartenente alla classe delle antracicline, ha dimostrato di possedere una notevole attività nei confronti di una vasta gamma di neoplasie solide, ma anche una significativa tossicità cardiaca che, essendo prevalentemente cumulativa, ne limitava enormemente l'uso.

Abstract

Purpose: To evaluate efficacy of dexrazoxane (Cardioxane®) in amelioration of chemotherapy induced cardiotoxicity.

Design: The most important experimental and clinical studies have been reviewed.

Results: Dexrazoxane has been shown to reduce anthracycline-induced cardiotoxicity. The drug is thought to reduce cardiac toxicity by binding to free and bound iron, thus reducing the formation of anthracycline-iron complexes and the generation of free radicals which are toxic to cardiac tissue.

The majority of clinical studies has been performed in patients with metastatic breast cancer. It has been shown that dexrazoxane: 1) significantly reduces the overall incidence of cardiac events, irrespective of pre-existing cardiac risk factors; 2) does not seem to affect anthracycline activity; 3) does not increase the incidence of chemotherapy induced non-cardiac toxic effects; 4) reduces cardiac toxicity in pediatric patients given anthracyclines; 5) is cost-effective.

Conclusions: Dexrazoxane is a valuable drug in amelioration of chemotherapy induced cardiotoxicity, both in adult and pediatric patients. Whether it offers protection against late-onset cardiac toxicity in this latter group of patients, remains to be demonstrated. Dexrazoxane should be always used, preferably from the onset of chemotherapy, when it is believed that cumulative doses of doxorubicin ≥ 300 mg/m² or of epirubicin ≥ 480 mg/m² will be reached.

Key words: Anthracyclines, cardioprotection, cardiotoxicity, dexrazoxane

La successiva ricerca di analoghi con migliore indice terapeutico ha solo parzialmente risolto il problema poiché l'epirubicina, unico analogo largamente usato in clinica, pur essendo meno tossica del composto madre, non è priva di cardiotoxicità (2). Entrambi questi farmaci continuano oggi ad essere largamente usati in oncologia, sovente ricorrendo ad una limitazione empirica della dose cumulativa al fine di ridurre la probabilità di insorgenza di uno scompenso cardiaco congestizio (CHF).

Correspondence: Prof. Massimo Lopez, Divisione di Oncologia Medica II, Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori, V.le Regina Elena 291, 00161 Rome, Italy - Fax 06-4463851

Gli effetti cardiotossici delle antracicline possono essere acuti, cronici o tardivi (Tabella 1). La cardiotossicità acuta non è frequente, si manifesta subito dopo una singola somministrazione ed è in genere transitoria e di scarso significato clinico. Più importante è la cardiotossicità cronica che in genere si manifesta clinicamente 1-2 mesi dopo l'ultima somministrazione di antraciclina ed è caratterizzata da tachicardia, tachipnea, congestione venosa e polmonare, versamento pleurico ed edemi declivi. L'inizio sovente è rapido, il decorso progressivo, può esservi resistenza al trattamento con esito fatale. In studi retrospettivi (3,4) su pazienti non selezionati, alcuni dei quali anche con malattie cardiache, trattati con doxorubicina, la probabilità di CHF è risultata rara

con dosi cumulative < 450 mg/m², del 7% con dosi di 550 mg/m², del 15% e del 30-40% con dosi, rispettivamente, di 600 mg/m² e 700 mg/m². L'evento tossico, tuttavia, si può manifestare anche a dosi più basse. Studi prospettici suggeriscono che il rischio di CHF è maggiore di quello sopra riportato poiché, se i pazienti sono seguiti attentamente, segni iniziali di CHF a dosi ≥ 450 mg/m² possono riscontrarsi in > 25% dei casi (5,6).

L'epirubicina determina un danno cardiaco morfologicamente simile a quello della doxorubicina, ma di entità minore. Clinicamente (Fig. 1), si può ritenere che la stessa probabilità di sviluppare uno scompenso cardiaco congestizio associata a dosi cumulative di doxorubicina di 450 mg/m² si ha con dosi di epirubicina di 900 mg/m² (7).

Il terzo tipo di cardiotossicità, quello ad insorgenza tardiva, può verificarsi dopo vari anni dal termine del trattamento ricevuto, in genere, in età infantile. Poiché le antracicline fanno parte di vari regimi chemioterapici in grado di guarire molte neoplasie dell'infanzia, più del 50% dei pazienti pediatrici sopravvissuti ha ricevuto un trattamento con tali farmaci. I bambini, tuttavia, sono più suscettibili degli adulti agli effetti cardiotossici delle antracicline, poiché eventi tossici possono osservarsi anche dopo dosi cumulative di doxorubicina di soli 90 mg/m² (8,9). Le antracicline possono determinare una riduzione dello sviluppo cardiaco o un danno funzionale e strutturale latente, che si manifesta quando lo sviluppo del bambino richiede prestazioni cardiache superiori alle capacità del cuore. Lo scompenso cardiaco si può manifestare anche 6-10 anni dopo il trattamento e può rendersi necessario il trapianto di cuore.

Tabella 1. Tipi di cardiotossicità indotta da antracicline

- | |
|--|
| 1. Acuta |
| a. Modificazioni del tratto ST e dell'onda T |
| b. Prolungamento dell'intervallo QT |
| c. Aritmie |
| d. Disturbi della conduzione |
| e. Miopericardite e scompenso cardiaco |
| 2. Cronica |
| a. Scompenso cardiaco congestizio |
| 3. Tardiva |
| a. Alterazioni della funzione ventricolare |
| b. Disturbi della conduzione |
| c. Aritmie |
| d. Scompenso cardiaco |

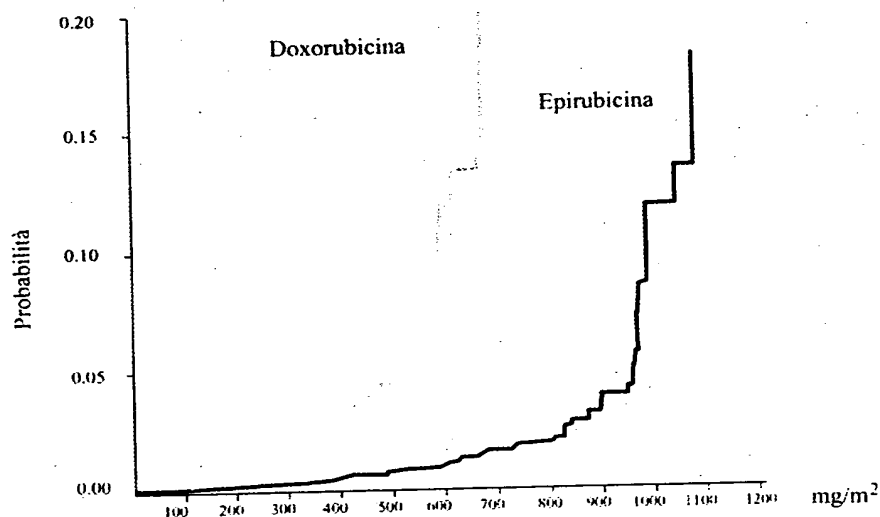


Fig. 1. Probabilità cumulativa di sviluppare uno scompenso cardiaco congestizio (Da Praga et al., 1991)

Sebbene siano stati chiamati in causa vari meccanismi per spiegare la cardiotossicità da antracicline, si ritiene che essa sia fondamentalmente legata alla formazione di radicali liberi. Le reazioni di formazione di radicali liberi possono avvenire senza (ferro-indipendenti) o con (ferro-dipendenti) l'intervento del ferro.

Un primo meccanismo di formazione di radicali liberi riguarda la riduzione delle antracicline mediante il trasferimento di un elettrone (Fig. 2). Le antracicline sono chinoni che, in presenza di specifici enzimi flavinici (NADPH-citocromo P450 riduttasi, NADH deidrogenasi), possono andare incontro a riduzione con formazione dei corrispondenti radicali liberi semichinonici (SQ·) (10), prima che un'ulteriore riduzione formi un alcool (per es., doxorubicinolo). In presenza di O_2 , SQ· cede rapidamente l'elettrone all' O_2 per generare un anione superossido ($O_2^{\cdot -}$) che può dare l'avvio ad una serie di reazioni che conducono alla formazione di un radicale ossidrilile ($OH\cdot$), che è estremamente reattivo e distruttivo. L'anione superossido (Fig. 3) può reagire con sé stesso per formare acqua ossigenata (H_2O_2) che, a sua volta, viene trasformata in radicale ossidrilile. Tuttavia, essendo la reazione (2) lenta, si ritiene che siano predominanti due altri meccanismi di formazione di $OH\cdot$. Il radicale libero semichinonico può reagire direttamente con H_2O_2 per generare $OH\cdot$ o, più frequentemente, è lo ione ferroso Fe^{2+} a reagire con H_2O_2 per generare $OH\cdot$.

Un secondo meccanismo di generazione di radicali liberi riguarda la capacità delle antracicline di formare un legame diretto col ferro (11-13), soprattutto con lo ione ferrico (Fe^{3+}), in virtù della loro struttura idrochinonica. Il ferro viene chelato (Fig. 4) tra gli atomi di os-

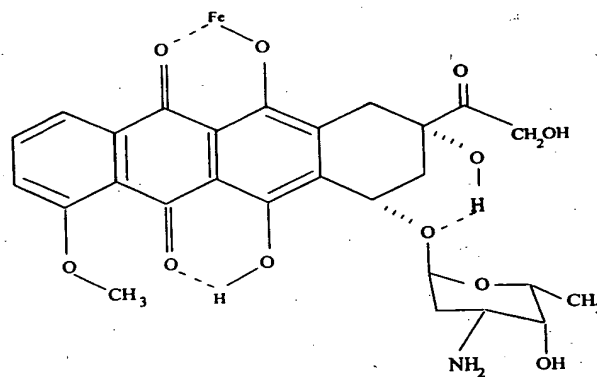


Fig. 4. Legame della doxorubicina col ferro

sigeno del chinone e dell'idrochinone in posizione C_{11} e C_{12} (ogni ione Fe^{3+} si lega a tre molecole di doxorubicina). Il complesso Fe^{3+} -antraciclina può catalizzare il trasferimento di elettroni all'ossigeno molecolare da composti tiolici, quali il glutathione e la cisteina, o può andare incontro ad un processo di ossido-riduzione interna per generare il complesso Fe^{2+} -antraciclina. Questo, a sua volta, può cedere il suo elettrone soprannumerario all'ossigeno molecolare. Entrambi questi meccanismi conducono, pertanto, alla formazione di radicali superossido.

La formazione di radicali dell'ossigeno si verifica comunemente nel corso di normali processi metabolici e molti mammiferi hanno sviluppato meccanismi di difesa nei loro confronti. Così, alcuni enzimi (superossido-dismutasi, glutathione-perossidasi, catalasi) possono ridurre lo ione superossido e l'acqua ossigenata ad acqua senza formare il radicale ossidrilile. Questi enzimi non sono ugualmente distribuiti in tutti i tessuti. La tossicità specifica per il cuore delle antracicline è stata, così, correlata al fatto che: a) il tessuto cardiaco ha bassi livelli di catalasi; b) il tessuto cardiaco ha alti livelli di enzimi flavinici che catalizzano le reazioni di formazione di radicali liberi; c) la doxorubicina distrugge l'attività della glutathione-perossidasi (14,15). Pertanto, il tessuto cardiaco, mentre stimola la formazione di radicali liberi dell'ossigeno, ha scarsi mezzi per inattivare il radicale superossido.

Le prove che la formazione di radicali liberi dell'ossigeno contribuisca all'effetto antitumorale delle antracicline sono molto meno evidenti e, pertanto, si ritiene che i meccanismi che stanno alla base della citotossicità e della cardiotossicità delle antracicline siano in gran parte diversi tra di loro. Ciò implica che dovrebbe essere possibile prevenire la tossicità cardiaca indotta da antracicline senza alterare la capacità di questi farmaci di uccidere le cellule neoplastiche.

Il complesso Fe^{3+} -antraciclina, inoltre, è di per sé un potente ossidante che può determinare la perossidazione dei lipidi senza l'intervento di radicali liberi dell'ossigeno (16,17). La conseguenza è la distruzione ossidativa delle membrane cellulari. A livello cardiaco vengono soprattutto danneggiati il sarcolemma, con esposizione

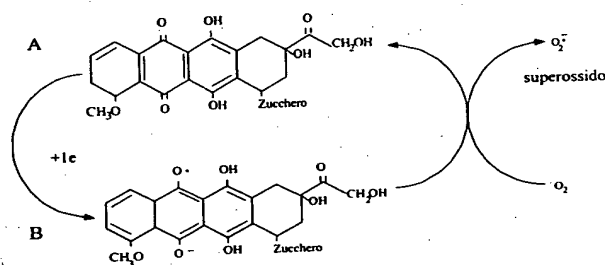


Fig. 2. Formazione del radicale superossido. A: riduzione della doxorubicina mediante trasferimento di un elettrone. B: radicale libero semichinonico (SQ·)

- (1) $2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$
- (2) $O_2^{\cdot -} + H_2O_2 \longrightarrow OH\cdot + OH^- + O_2$
- (3) $H_2O_2 + SQ\cdot \longrightarrow \text{Composto madre} + OH\cdot + OH^-$
- (4) $Fe^{3+} + O_2^{\cdot -} \longrightarrow O_2 + Fe^{2+}$
- (5) $Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH\cdot + OH^-$

Fig. 3. Chimica dei radicali dell'ossigeno

della miosina, e i mitocondri. Inoltre, il danno al reticolo sarcoplasmatico diminuisce il calcio legato e determina una riduzione della contrattilità agendo sul complesso actina-miosina. Il Ca^{2+} libero, a sua volta, può anche attivare proteasi a livello cardiaco con danno alle miofibrille.

In definitiva, la cardiotossicità indotta da antracicline è il risultato di vari meccanismi tra di loro più o meno correlati: a) formazione di anioni superossido attraverso il metabolismo delle antracicline o del complesso ferro-antraciclina; b) formazione del radicale ossidril, ancora più tossico, facilitata dall'assenza a livello cardiaco di adeguati meccanismi protettivi e dalla presenza del complesso Fe^{2+} -antraciclina; c) tossicità diretta del complesso Fe^{2+} -antraciclina.

Una diminuzione della tossicità cardiaca cronica da antracicline può essere ottenuta facendo una diagnosi precoce in modo da sospendere tempestivamente il trattamento. Ciò è di sicura utilità, ma ha lo svantaggio che comunque un danno tossico si è già verificato e il farmaco può essere sospeso in pazienti cui era di sicuro beneficio.

La prevenzione dell'effetto cardiotossico è sicuramente il metodo migliore. Nel corso degli anni sono stati fatti vari tentativi per raggiungere questo obiettivo ricorrendo all'uso di scambiatori di radicali liberi (18,19), ma senza successo. In realtà, poiché i radicali $\text{OH}\cdot$ sono estremamente reattivi, è difficile ipotizzare che gli scambiatori di radicali liberi possano avere elevate probabilità di riuscire efficaci nel prevenire la cardiotossicità. Più razionale è, invece, l'approccio di ricorrere ad

una agente chelante che competa con l'antraciclina per il legame col ferro in modo da impedire la formazione del complesso reattivo Fe^{3+} -antraciclina.

Il più interessante di questi agenti è il dexrazoxane.

Proprietà farmacologiche del dexrazoxane

Chimica. Il dexrazoxane (ICRF-187, Cardioxane®) è l'isomero destrogino, ottenuto per sintesi, del complesso racemico ICRF-159 (razoxane), un derivato dell'agente chelante EDTA (acido etilendiamminotetraacetico) appartenente al gruppo delle bis-diossiperazine e inizialmente valutato come agente antitumorale. La limitata solubilità del razoxane indusse ad usarlo per via orale, ma anche per questa via la biodisponibilità del farmaco risultò essere scarsa. Il problema fu risolto allorché si evidenziò che i due enantiomeri dell'ICRF-159, dexrazoxane e levrazoxane (ICRF-186), erano ognuno cinque volte più idrosolubili del composto racemico. Il dexrazoxane fu scelto per essere sviluppato clinicamente perché era il più attivo dei due isomeri.

Meccanismo d'azione. Il dexrazoxane è una sostanza non polare che entra facilmente nelle cellule dove viene idrolizzato (Fig.5) formando ICRF-198, che è un chelante bidentato a struttura simile all'EDTA. Poiché l'idrolisi è necessaria affinché il farmaco sia attivo, il dexrazoxane è stato definito un agente protettivo "suicida" (20). L'ICRF-198 è un prodotto molto polare, per cui esce dalla cellula con difficoltà, ed è un potente chelante del ferro intracellulare sia libero che legato.

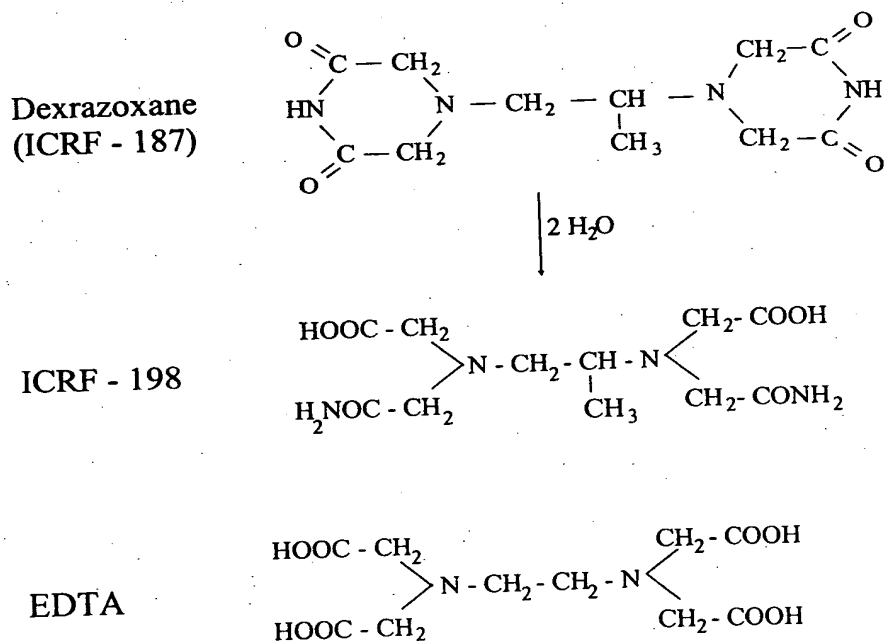
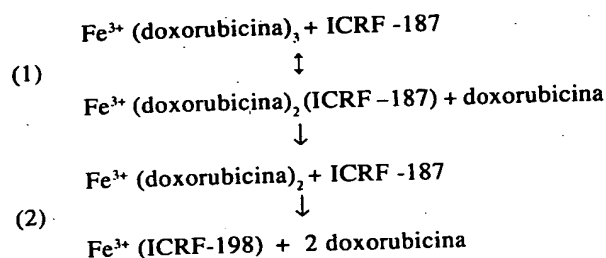


Fig. 5. Formula di struttura di dexrazoxane, ICRF-198 e EDTA)

L'idrolisi dell'ICRF-187 viene favorita dal complesso Fe^{3+} -(antraciclina), attraverso le seguenti reazioni (20):



L'ICRF-198, legandosi al ferro libero, riduce la quantità di ferro disponibile nella cellula prevenendo la formazione dei complessi Fe^{3+} -antraciclina ed, inoltre, stacca il ferro dai complessi già formati. Il legame di ICRF-198 col ferro riduce la carica dell'agente chelante e ne favorisce la fuoriuscita dalla cellula. L'escrezione urinaria del ferro è, nell'uomo, aumentata di 10 volte dall'ICRF-187.

La sequenza degli eventi ipoteticamente verificanti a livello cellulare è schematizzata nella Fig.6. Il ferro viene trasportato legato alla transferrina e la sua entrata nella cellula è controllata dall'espressione della membrana cellulare del recettore per la transferrina. Dopo l'interazione con il recettore, il complesso recettore-transferrina viene internalizzato per formare un endosoma che è rapidamente acidificato. Allorché il pH è < 6.5, il ferro viene rilasciato e la apotransferrina (senza ferro) fuoriesce dalla cellula. Il ferro libero può essere usato per la sintesi di varie proteine contenenti ferro o depositato sotto forma di ferritina. Se nella cellula c'è ICRF-187, il ferro viene chelato e fuoriesce come complesso Fe^{3+} -(ICRF-198). Se è stata somministrata doxorubicina e si è formato il complesso Fe^{3+} -doxorubicina,

il ferro del complesso viene chelato e fuori dalla cellula si troverà un complesso Fe^{3+} -(ICRF-198) e doxorubicina libera. La capacità del dexrazoxane di rimuovere il ferro dalla transferrina, dalla ferritina e dai complessi ferro-antraciclina è stata ripetutamente dimostrata *in vitro* (21-23).

Farmacocinetica. La farmacocinetica del dexrazoxane come agente singolo è stata studiata negli studi iniziali di fase I miranti a sviluppare il farmaco come agente antineoplastico (24-26). Gli studi successivi sono stati eseguiti in pazienti trattati con antraciline quali agenti singoli (27,28), con regimi chemioterapici comprendenti un'antraciclina (29-31) sollevando il quesito di una possibile interazione farmacologica tra antraciline e dexrazoxane.

Dopo somministrazione endovenosa, il farmaco si distribuisce rapidamente nei tessuti e nei liquidi corporei, raggiungendo le massime concentrazioni nel fegato e nel rene. Non supera la barriera emato-encefalica in quantità significative ed è scarsamente legato alle proteine plasmatiche (<2%). L'eliminazione del farmaco è bifasica con un $T_{1/2\alpha}$ di circa 12-60 minuti, in genere ritenuto di 15 minuti, ed un $T_{1/2\beta}$ di 2-4 ore, in genere ritenuto di 140 minuti. I parametri farmacocinetici appaiono indipendenti dalla dose e dalla schedula di somministrazione.

Il dexrazoxane è idrolizzato dall'enzima diidropirimidina amidoidrolasi con formazione di prodotti con uno o due anelli aperti, entrambi in grado di legare ioni metallici. L'eliminazione avviene soprattutto per via renale, rappresentando più del 50% dell'eliminazione totale. Nelle urine sono stati riscontrati sia il farmaco immodificato che prodotti di derivazione.

Le caratteristiche farmacocinetiche più importanti del dexrazoxane negli adulti sono riportate nella Tabella 2. In uno studio effettuato in adulti e bambini (25), è stato

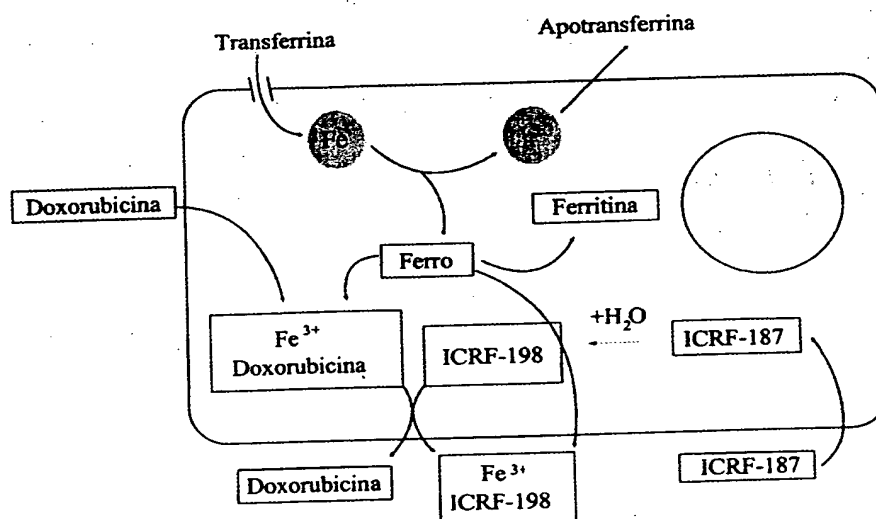


Fig. 6. Meccanismo d'azione del dexrazoxane

in questi ultimi riscontrato un maggior volume di distribuzione ed una clearance totale più rapida. Ciò potrebbe in parte spiegare la migliore tollerabilità ematologica dell'ICRF-187 nei soggetti pediatrici.

La farmacocinetica del dexrazoxane non è stata studiata in pazienti con compromessa funzione renale ed epatica. Tuttavia, tenuto conto della distribuzione ed eliminazione del farmaco, dovrebbe essere usato con cautela in questi pazienti.

In vari studi non è stato possibile evidenziare interazioni con le antracicline. Il dexrazoxane, a dosi di 600 mg/m² somministrato 15-30 min prima di 60 mg/m² di doxorubicina, non ha modificato i parametri farmacocinetici dell'antraciclina (27,32). Lo stesso si è verificato allorché il farmaco (600-1000 mg/m²) è stato somministrato 15-30 min prima di 60-120 mg/m² di epirubicina (28,30).

Attività preclinica. La scoperta dell'effetto cardioprotettivo delle bis-diossiperazine risale all'osservazione, riportata nel 1972 (33), che il razoxane e l'EDTA erano in grado di antagonizzare l'aumento della pressione di perfusione coronarica in cuori isolati da cani pretrattati con doxorubicina o daunorubicina. Studi successivi dimostrarono che il razoxane migliora anche la tossicità acuta da daunorubicina nei criceti e nelle scimmie, poiché il 50% degli animali pretrattati con ICRF-159 era vivo dopo 3 settimane dalla somministrazione di una dose letale dell'antraciclina (34).

L'effetto cardioprotettivo del dexrazoxane è stato studiato in varie specie animali trattate con antracicline (daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, idarubicina) ed è risultato significativo nel ridurre l'incidenza di lesioni cardiache, nell'aumentare le percentuali di sopravvivenza degli animali rispetto ai controlli e nel fornire una protezione di lunga durata nei confronti di miocardiopatie indotte da antracicline (35-41).

La cardioprotezione nel topo è risultata significativa con un rapporto di dose (doxorubicina: dexrazoxane) variabile da 1:4 a 1:30, allorché la dose di doxorubicina è stata di 4 mg/kg. Tuttavia, l'effetto dose-risposta è risultato molto evidente fino al rapporto di 1:10, aumentando solo leggermente con l'ulteriore incremento del rapporto di dose e senza raggiungere una protezione completa (42).

Alcuni studi hanno valutato l'efficacia del dexrazoxane in rapporto al tempo di somministrazione rispetto all'antraciclina. Nel topo, la cardioprotezione è risulta-

ta massima allorché il dexrazoxane, con rapporto di dose 1:12, è stato somministrato approssimativamente da 30 min prima a 15 min dopo la somministrazione di doxorubicina, anche se una protezione statisticamente significativa ($P < 0.05$) è risultata evidente allorché il dexrazoxane è stato iniettato da 24 h prima ad 1 h dopo la doxorubicina (43).

È stato anche valutato l'effetto di dilazionare il trattamento con dexrazoxane in ratti trattati con doxorubicina (40). La cardioprotezione è risultata significativa ($P < 0.05$) allorché il trattamento con dexrazoxane è stato iniziato prima della prima o della terza dose di doxorubicina, mentre è stata meno evidente allorché l'inizio è stato ritardato alla sesta dose dell'antraciclina.

Nell'animale da esperimento, l'effetto cardioprotettivo del dexrazoxane appare essere di lunga durata. Nel ratto, la durata dell'effetto del dexrazoxane, somministrato prima della doxorubicina con rapporto di dose da 1:5 a 1:20, è stata di oltre 6 mesi dall'interruzione del trattamento antraciclino (44). Il dexrazoxane ha ridotto la cardiotossicità con un rapporto di dose 1:5, ma ciò non è risultato statisticamente significativo rispetto ai controlli. Usato con rapporti più elevati, l'effetto cardioprotettivo era presente nella 35^a settimana. Una cardioprotezione di lunga durata è stata anche osservata in conigli trattati con daunorubicina (41).

Gli studi preclinici hanno anche valutato l'eventuale interferenza del dexrazoxane con l'attività antineoplastica delle antracicline o di altri farmaci ad esse comunemente associati. In genere si è trattato di studi eseguiti su vari modelli animali *in vivo*, usando dosi, schedule e vie di somministrazione diverse dei farmaci, nonché modalità diverse di impianto del tumore. Talora, sono stati condotti studi *in vitro*. Il dexrazoxane è stato somministrato immediatamente prima dell'antraciclina con un rapporto di dose variabile da 1:5 a 1:20 (45, 46). Le conclusioni di questi studi hanno evidenziato che: a) il dexrazoxane da solo è essenzialmente inattivo come farmaco antiproliferativo; b) l'associazione di doxorubicina e dexrazoxane ha la stessa efficacia della doxorubicina da sola, ma talora l'attività è maggiore rispetto a quella attesa da un effetto additivo; c) il dexrazoxane non interferisce con l'attività di altre antracicline (epirubicina, idarubicina, daunorubicina); d) in alcuni tumori sperimentali, il dexrazoxane potenzia l'effetto antineoplastico del fluorouracile e della ciclofosfamide; e) un possibile

Tabella 2. Caratteristiche farmacocinetiche del dexrazoxane

C_{max} media (dose di 500 mg/m ²)	36.5 mg/L
Legame alle proteine plasmatiche	< 2%
Vdss	1.1 L/kg
$T_{1/2\alpha}$	15 min
$T_{1/2\beta}$	140 min
Metabolismo	Idrolisi con apertura degli anelli e formazione di prodotti attivi
Eliminazione	Prevalentemente per via renale
Penetrazione liquorale	Scarsa
Clearance media totale	0.29 L/h/kg

C_{max} = concentrazione plasmatica massima; Vdss = volume di distribuzione in condizioni di stazionarietà; $T_{1/2\alpha}$ = emivita di distribuzione; $T_{1/2\beta}$ = emivita di eliminazione

Tabella 3. Risultati degli studi con dexrazoxane in modelli animali

1. L'effetto cardioprotettivo del dexrazoxane in varie specie animali è evidenziato da:
 - a. Un incremento delle percentuali di sopravvivenza degli animali trattati con antracicline
 - b. Una diminuzione significativa della frequenza e della gravità delle lesioni cardiache
 - c. Una protezione di lunga durata nei confronti di miocardiopatie indotte da antracicline
2. La dose ottimale di dexrazoxane in rapporto all'antraciclina è da 1:10 a 1:20
3. La dose di dexrazoxane necessaria per ottenere la massima cardioprotezione dipende dalla dose di antraciclina e dalla potenza cardiotossica di questa (per epirubicina, idarubicina e daunorubicina sono richieste dosi inferiori a quelle necessarie per la doxorubicina che è più cardiotossica)
4. L'effetto cardioprotettivo del dexrazoxane è massimo allorché somministrato da 30 min prima a 15 min dopo l'antraciclina
5. Sebbene l'effetto del dexrazoxane sia maggiore allorché somministrato con la dose iniziale di doxorubicina, esso persiste anche (minore) se iniziato più tardivamente nel corso della terapia con antraciclina
6. Il dexrazoxane non interferisce con l'attività antitumorale di antracicline, fluorouracile e ciclofosfamide. Anzi, talora l'effetto è apparso sinergico

effetto citotossico sinergico tra doxorubicina e dexrazoxane è stato osservato *in vitro* su cellule di sarcoma murino S180 (47) e di leucemia umana HL-60 (48).

I modelli animali sono stati di grande utilità nello studio della cardiotossicità da antracicline e dell'effetto cardioprotettivo del dexrazoxane. Essi hanno fornito numerose informazioni (Tabella 3) che si sono rivelate anche di utilità clinica.

Efficacia clinica

L'effetto cardioprotettivo del dexrazoxane è stato oggetto di vari studi clinici sia in pazienti adulti che pediatrici trattati con antracicline (doxorubicina o epirubicina), generalmente per carcinoma della mammella o sarcomi. La valutazione cardiaca più frequentemente è stata clinica e funzionale (ECG, angiocardioscintigrafia), talora istologica (biopsia endomiocardica), tal'altra anche eseguita con immunoscintigrafia con anticorpi marcati anti-miosina.

La tossicità cardiaca è stata, in genere, definita in base alla presenza di uno o più dei seguenti eventi: segni clinici di scompenso cardiaco congestizio; diminuzione assoluta della frazione di eiezione del ventricolo sinistro (LVEF) a < 45% o riduzione $\geq 20\%$ rispetto ai valori basali; score istopatologico ≥ 2 secondo la scala di Billingham; HLR (heart-to-lung ratio) > 1.58 alla scintigrafia con anticorpi anti-miosina.

Nella maggior parte degli studi sono state usate dosi standard di antracicline, sovente in associazione ad altri farmaci. In alcuni studi è stata usata epirubicina ad alte dosi quale agente singolo.

Carcinoma della mammella. Il carcinoma della mammella in fase avanzata è stato oggetto di vari studi di fase I-II miranti a valutare l'attività cardioprotettiva del dexrazoxane (49-55). In altri studi, tale valutazione è stata fatta in maniera randomizzata (6,56-61). Gli studi con maggior numero di pazienti sono riportati nella Tabella 4.

In genere, il dexrazoxane è stato somministrato circa 30 min prima dell'antraciclina con un rapporto di dose di 1:10 o 1:20.

Il primo studio randomizzato effettuato (57), è stato successivamente riportato con dati aggiornati su un maggior numero di pazienti arruolati (6).

Due studi multicentrici randomizzati a doppio cieco con placebo (59) hanno evidenziato un significativo effetto cardioprotettivo del dexrazoxane prima del completamento dell'arruolamento previsto dei pazienti. Il protocollo di studio, pertanto, è stato modificato in modo tale che i pazienti ricevuti il placebo potessero essere trattati con dexrazoxane una volta raggiunta una dose cumulativa di doxorubicina ≥ 300 mg/m², cioè dopo 6 cicli di chemioterapia. La valutazione finale, pertanto, è stata retrospettiva (60) ed ha messo a confronto l'incidenza di eventi cardiaci nei pazienti randomizzati a ricevere il placebo prima della modifica del protocollo (questi pazienti avevano ricevuto fino a 13 cicli di chemioterapia) con quella nei pazienti che hanno iniziato col placebo ma sono passati al dexrazoxane dopo la modifica del protocollo. In questo modo si poteva valutare se la somministrazione dilazionata (dopo dose cumulativa di doxorubicina ≥ 300 mg/m²) di dexrazoxane era in grado ancora di conferire una efficace cardioprotezione.

In uno studio (61), sono state usate dosi singole molto alte (160 mg/m² ogni 3 settimane) di epirubicina al fine di valutare se la cardioprotezione poteva essere ottenuta anche in presenza di elevati picchi ematici di antraciclina che rappresentano un fattore di rischio per l'insorgenza di cardiotossicità (62-64) poiché si ipotizza che in tale situazione viene superata la capacità del tessuto cardiaco di detossificare l'antraciclina libera e i radicali prodotti. In questo stesso studio (61), è stata usata una dose di dexrazoxane di 1000 mg/m², corrispondente ad un rapporto di dose di 1:6, poiché il ricorso ad un rapporto più alto può aumentare l'incidenza di mielosoppressione (57,59) ed esistono evidenze che la massima capacità di saturazione del ferro intracellulare si verifica allorché la dose di dexrazoxane è di 1000 mg/m² (81).

Nello studio (61) sono entrati pazienti affetti da carcinoma mammario e sarcomi dei tessuti molli in fase avanzata. Poiché, tuttavia, non sono state osservate differenze significative in ognuna delle due malattie tra i

Tabella 4. Studi con dexrazoxane in pazienti con carcinoma mammario in fase avanzata

Studio	Regime terapeutico (mg/m ²)	N° pazienti Valutabili	Rapporto ANT:DEX (mesi)	Dose totale mediana ANT	Risposte %	Sopravvivenza mediana	Tossicità ematologica	Cardiotossicità	
								↓ LVEF (%)	CHF (%)
ten Bokkel Huinink et al. (56)	A.CAF	55	1:20	NR	50	NR	Maggiore in B (NS)	Maggiore in A (NS)	0
	B.CAF + DEX	57		NR	41	NR			0
Kolaric et al. (55)	CAF + DEX	212	1:20	311	49.5	NR	-	1.4	1.4
Speyer et al. (57)	A.CAF	45	1:20	430	45	NR	Maggiore in B (S)	Maggiore in A (S)	24
	B.CAF + DEX	47		500	48	NR			4.2
Speyer et al. (6)	A.CAF	74	1:20	440.5	41	16.7	Maggiore in B (S)	Maggiore in A (S)	27
	B.CAF + DEX	76		500	37	18.3			2.6
Venturini et al. (58)	A.CEF o EPI	78	1:10	720	46.2	NR	Nessuna differenza	17.9	5.1
	B. Idem + DEX	82		720	47.2	NR		4.8	2.4
Swain et al. (59)	A.CAF + PLA	181	1:10	NR	60.5	18.3	Maggiore in B (S)	NR	8
	B.CAF + DEX	168		NR	46.8	19.9			0
Swain et al. (59)	A.CAF + PLA	104	1:10	NR	49.3	18.4	Maggiore in B (S)	NR	7
	B.CAF + DEX	81		NR	53.7	15.2			2
Swain et al. (60)	A.CAF + PLA	99	1:10	NR	NR	15.3	NR	NR	22
	B.CAF + PLA → DEX	102		NR	NR	29.4			3
Lopez et al. (61)	A.EPI	49	1:6	880	69	19	Nessuna differenza	29	6.4
	B.EPI + DEX	43		960	67	29		8.5	0

ANT= antraciclina; DEX= dexrazoxane; LVEF= frazione di eiezione del ventricolo sinistro; CHF= scompenso cardiaco congestizio; NR= non riportato; S= statisticamente significativo; NS= statisticamente non significativo; CAF= ciclofosfamida, doxorubicina, fluorouracile; CEF= ciclofosfamida, epirubicina, fluorouracile; EPI= epirubicina; PLA= placebo; ↓ = diminuzione

due bracci di trattamento, i dati relativi alla tossicità sono stati cumulati.

In tutti gli studi clinici, l'incidenza di cardiotossicità è stata significativamente minore nei pazienti trattati con dexrazoxane rispetto ai controlli. Ciò è stato documentato sia mediante valutazione clinica (CHF) che di laboratorio (diminuzione di LVEF, score istopatologico, HLR).

Una significativa riduzione di CHF è stata osservata nei due studi condotti da Speyer et al. (6,57) ed in uno dei due studi con placebo condotti da Swain et al. (59). In questi due studi, gli eventi cardiaci complessivi sono stati del 14% e del 15% nelle pazienti trattate con dexrazoxane e del 31% in quelle che hanno ricevuto il placebo. L'incidenza di CHF è stata, rispettivamente, dello 0% e dell'8% ($P < 0.001$) in uno studio e del 2% e del 7% ($P = 0.3$) nell'altro. I benefici del dexrazoxane sono risultati più evidenti con dosi di doxorubicina > 500 mg/m². Una minore incidenza di CHF è stata riportata anche in altri studi randomizzati (58,61).

Una significativa riduzione di LVEF nei controlli rispetto ai pazienti trattati con dexrazoxane è stata osservata in vari studi che hanno valutato questo parametro (6,57,58,61), mentre un minor danno cardiaco è stato riportato nell'unico studio che ha utilizzato la biopsia endomiocardica (57).

Una nuova metodica di valutazione della cardiotossicità da antracicline è rappresentata dalla radioimmunosintigrafia (RIS) con anticorpi monoclonali anti-miosina marcati con indio-111 (65). Nello studio in cui è

stata utilizzata questa tecnica (61), la RIS si è dimostrata molto sensibile nell'evidenziare il danno cardiaco da antracicline (Fig.7) e la comparsa di un abnorme HLR (> 1.58) ha in genere preceduto il deterioramento della frazione di eiezione.

La RIS è molto utile per selezionare agenti con bassa cardiotossicità o per valutare trattamenti miranti a ridurre gli effetti cardiotossici da antracicline, ma, essendo dotata di bassa specificità, non può essere utilizzata come unico metodo per guidare clinicamente la terapia con antracicline (66).

L'analisi retrospettiva (60) delle pazienti randomizzate nei due studi di fase III (59) a ricevere il placebo, prima o dopo la modifica del protocollo, ha evidenziato che l'incidenza di eventi cardiaci nelle pazienti trattate con dexrazoxane dopo il placebo (cioè dopo aver raggiunto una dose cumulativa di doxorubicina ≥ 300 mg/m²) è stata del 25% contro il 60% nelle pazienti che hanno ricevuto il placebo per tutta la durata dello studio ($P < 0.001$). Significativamente minore è risultata anche l'incidenza di CHF nelle pazienti trattate con dexrazoxane, 3% contro 22% ($P < 0.001$).

Il dexrazoxane si è rivelato efficace anche nel ridurre la cardiotossicità nelle pazienti con fattori di rischio preesistenti (6,55,57,58), rappresentati da età > 65 anni, precedente radioterapia sul mediastino, precedente terapia con antracicline, precedenti malattie cardiache, diabete e anomalie elettrocardiografiche. In uno studio non comparativo (55), specificamente condotto in pazienti

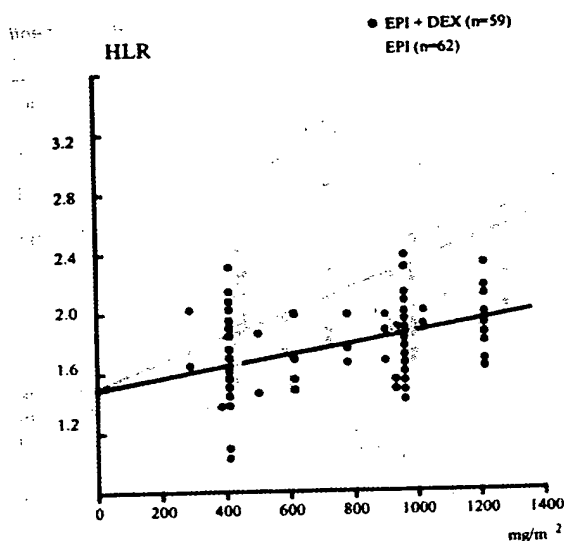


Fig. 7. Regressione lineare dei valori di HLR in pazienti trattati con epirubicina ad alte dosi + dexrazoxane ($P < 0.0001$)

con fattori di rischio pre-esistenti, non è stata riscontrata cardiotoxicità fino a dosi cumulative di doxorubicina di 800-1000 mg/m^2 in 30/35 pazienti trattate con dexrazoxane. Negli altri studi (6,57,58), in cui i fattori di rischio erano presenti in più di 1/3 delle pazienti, il dexrazoxane è risultato cardioprotettivo indipendentemente dai fattori di rischio. Anzi, in uno studio (58), l'effetto cardioprotettivo è apparso maggiore proprio nelle pazienti con fattori di rischio cardiovascolari, anche se non a livello statisticamente significativo.

La cardioprotezione conferita dall'uso del dexrazoxane ha consentito di somministrare alle pazienti un maggior numero di cicli di chemioterapia ed una più elevata dose cumulativa di antracicline (6). Non è chiaro, tuttavia, se ciò può tradursi in un aumento del tempo alla progressione o della sopravvivenza.

Il dexrazoxane non sembra interferire negativamente con l'attività antineoplastica della chemioterapia. Nella maggior parte degli studi controllati non ci sono state differenze significative tra i pazienti trattati con dexrazoxane e i controlli in termini di percentuali di risposte oggettive, tempo alla progressione e sopravvivenza mediana. Tuttavia, nello studio controllato con placebo con la più alta numerosità di pazienti (59), le risposte oggettive sono state significativamente più elevate nelle pazienti che hanno ricevuto il placebo rispetto a quelle trattate con dexrazoxane (60.5% vs 46.8%; $P < 0.05$), anche se il tempo alla progressione e la sopravvivenza non sono risultati dissimili tra i due gruppi. È degno di rilievo il fatto che, nell'altro studio simile condotto dagli stessi ricercatori (59), le risposte oggettive non sono risultate diverse tra i due gruppi di pazienti (49.3% vs 53.7%).

In alcuni studi, la sopravvivenza mediana è apparsa più lunga nei pazienti trattati con dexrazoxane, anche se la differenza non è risultata significativa (6,61). Solo nello studio retrospettivo di Swain et al. (60), è riportata una differenza significativa in favore delle pazienti nel brac-

cio con dexrazoxane ($P < 0.001$), senza una corrispondente differenza nel tempo alla progressione. La spiegazione di questo dato è incerta poiché, se è vero che le pazienti trattate con dexrazoxane hanno potuto ricevere più cicli di chemioterapia, il numero mediano di cicli non è risultato diverso tra i due bracci di trattamento.

Tumori pediatrici. Gli studi finora condotti in età pediatrica non sono numerosi ed hanno arruolato solo un piccolo numero di pazienti (67-72) affetti da neoplasie varie, soprattutto sarcomi.

In uno studio di fase II (68), 22 pazienti con osteosarcoma sono stati trattati con cisplatino e doxorubicina (75 mg/m^2 ogni 3 settimane) per un massimo di 6 cicli. Il dexrazoxane è stato somministrato 30 min prima di ogni dose di doxorubicina con un rapporto di dose di 1:14. In 14 pazienti valutabili, non è stata osservata CHF, mentre tale evento si è verificato in 3/30 (10%) controlli storici che avevano ricevuto un trattamento chemioterapico simile. Una diminuzione di LVEF è stata osservata in 2/14 (14%) pazienti trattati con dexrazoxane e in 8/30 (27%) pazienti del gruppo di controllo. Il dexrazoxane non è apparso interferire con la tossicità extracardiaca della chemioterapia. In un altro piccolo studio (69), 33 pazienti affetti da sarcoma sono stati randomizzati per ricevere un regime comprendente doxorubicina con o senza dexrazoxane. La cardiotoxicità è stata significativamente minore nei pazienti ricevuti il cardioprotettore. La riduzione media di LVEF per 100 mg/m^2 di doxorubicina è stata del 27% nei controlli e dell'1% nei pazienti trattati con dexrazoxane ($P = 0.02$). In questi due gruppi, la dose mediana cumulativa di doxorubicina è stata, rispettivamente, di 310 mg/m^2 e 410 mg/m^2 ($P < 0.05$). La percentuale di risposte e la sopravvivenza non è risultata differente tra i due gruppi.

Finora, i dati disponibili suggeriscono che il dexrazoxane è utile anche in età pediatrica per ridurre la cardiotoxicità da antracicline, ma è necessaria una maggiore esperienza clinica per stabilire se il farmaco è efficace nel prevenire gli effetti cardiotoxici tardivi.

Tossicità extra-cardiaca. La maggior parte degli studi finora condotti indica che la somministrazione di dexrazoxane non modifica significativamente la tossicità extra-cardiaca della chemioterapia. L'incidenza e il tipo di effetti collaterali non è stato, in genere, diverso nei pazienti cardioprotetti rispetto ai controlli.

In alcuni studi (6,59), è stata riportata una maggiore mielodepressione nei pazienti ricevuti il dexrazoxane, soprattutto sotto forma di leucopenia grave al nadir (59), mentre la neutropenia o la piastrinopenia non è risultata significativamente diversa (59). Il numero delle piastrine tendenzialmente è stato più basso nei pazienti trattati con dexrazoxane (6,59).

Degli altri effetti collaterali extra-cardiaci non ematologici, solo il dolore in sede di iniezione, peraltro lieve-moderato, è riportato più frequente nei pazienti trattati con dexrazoxane rispetto a quelli che hanno ricevuto il placebo (59). Mucosite, febbre neutropenica, diarrea, nausea e vomito, alopecia, anemia, astenia ed episodi emorragici non sono risultati dissimili per incidenza e gravità tra i controlli e i pazienti cardioprotetti (6,57-61).

I dati limitati disponibili nei pazienti pediatrici (68, 69, 71) non sembrano differire da quelli riportati in pazienti adulti.

Ruolo attuale del dexrazoxane e prospettive future.

Il problema della cardiotoxicità da antracicline non ha perso la sua attualità, anche se è ormai noto da vari decenni. Vari fattori concorrono a renderlo sempre più attuale: a) la tendenza ad usare dosi elevate di chemioterapici che, nel caso delle antracicline, comportano un maggior rischio di cardiotoxicità a causa degli elevati picchi ematici raggiunti; b) l'aumento dell'uso di antracicline, anche a dosi elevate, in regimi adiuvanti. Ciò comporta la necessità di ridurre gli effetti cardiotoxici anche in previsione di un eventuale uso degli stessi farmaci in pazienti che andranno incontro a ricaduta della malattia; c) il recente uso di regimi terapeutici molto efficaci e molto cardiotoxici, come l'associazione di paclitaxel e doxorubicina nel carcinoma della mammella in fase avanzata; d) l'osservazione di una elevata incidenza di malattie cardiache in pazienti che hanno ricevuto antracicline in età pediatrica. Uno studio americano condotto dal Pediatric Cardiomyopathy Registry (73), ha evidenziato che circa il 15% dei pazienti cardiopatici era stato trattato per cancro nell'infanzia o nell'adolescenza.

I vari tentativi per cercare di ridurre la tossicità cardiaca da antracicline sono stati rivolti ad effettuare una diagnosi precoce o a mettere in opera misure preventive. Le varie procedure diagnostiche (angiocardioscintigrafia, ecocardiografia, biopsia endomiocardica, radioimmunosintigrafia cardiaca) non hanno risolto il problema per scarsa accuratezza o scarsa praticità della metodica e, comunque, consentono di fare la diagnosi allorché il danno si è già verificato. Le misure preventive sono state rappresentate dalla limitazione empirica della dose cumulativa di antracicline (<450 mg/m² per la doxorubicina; <1000 mg/m² per la epirubicina); dalla modificazione delle modalità di somministrazione del farmaco (infusione continua, dosi settimanali); dalla modificazione della formulazione del farmaco (antraciclina liposomiale); dallo sviluppo di analoghi meno cardiotoxici (epirubicina, idarubicina); dall'uso di cardioprotettori. Finora, solo il dexrazoxane ha dimostrato di ridurre in maniera significativa e riproducibile gli effetti cardiotoxici correlati all'uso di antracicline (Tabella 5).

Il dexrazoxane va somministrato in soluzione per via endovenosa in circa 15 min, iniziando 30 min prima della somministrazione dell'antraciclina. Il rapporto di dose con l'antraciclina è, sovente, di 1:10 con l'indicazione di non superare la dose massima per ciclo di 100 mg/m². Negli USA, la terapia con dexrazoxane può essere iniziata allorché il paziente ha ricevuto una dose cumulativa di doxorubicina di 300 mg/m². È preferibile, tuttavia, somministrare il farmaco fin dall'inizio del trattamento antraciclinico ogni qual volta, nell'opinione del medico, saranno raggiunte dosi cumulative di 480 mg/m² di epirubicina o dosi equivalenti di doxorubicina.

In un'epoca di notevoli restrizioni economiche, come quella attuale, è lecito chiedersi se l'uso del farmaco sia

Tabella 5. Risultati degli studi clinici con dexrazoxane in pazienti neoplastici

1. Il dexrazoxane riduce significativamente l'incidenza di cardiotoxicità da antracicline come evidenziato da:
 - a. Diminuzione degli eventi cardiaci tossici, in particolare dello scompenso cardiaco congestizio
 - b. Minore incidenza di riduzione della frazione di eiezione del ventricolo sinistro
 - c. Minore incidenza e gravità di lesioni cardiache all'esame istologico
 - d. Minore evidenza di danno cardiaco alla radioimmunosintigrafia
2. L'effetto cardioprotettivo è indipendente dalla presenza o meno di fattori di rischio cardiaci
3. La cardioprotezione è evidente sia allorché il dexrazoxane è iniziato prima della prima dose di antraciclina che allorché è somministrato dopo il raggiungimento di dosi cumulative di doxorubicina ≥ 300 mg/m²
4. La cardioprotezione si ottiene anche quando sono usate dosi singole elevate di antraciclina
5. La dose ottimale di dexrazoxane non è nota. Spesso è usato un rapporto dexrazoxane: antraciclina di 1:10, ma efficace risulta anche un rapporto di 1:6
6. L'attività antineoplastica della chemioterapia non è alterata dalla somministrazione di dexrazoxane, anche se in uno studio essa è apparsa ridotta
7. Dati preliminari suggeriscono che il dexrazoxane è di beneficio anche in età pediatrica, ma non è ancora noto se è in grado di prevenire la tossicità cardiaca ad insorgenza tardiva
8. Il dexrazoxane non modifica la tossicità extra-cardiaca della chemioterapia, ma una maggiore leucopenia grave è stata riportata in alcuni studi
9. Da un punto di vista economico, il dexrazoxane ha un rapporto costo: beneficio favorevole

giustificato. Negli USA e in Canada sono state condotte, al riguardo, due analisi di farmacoeconomia (74,75), usando dati provenienti dallo studio retrospettivo di Swain et al. (60). Sono stati presi in considerazione: il costo per evento cardiaco evitato nel corso di 1 anno; il costo per anno di vita guadagnato; il costo nel 1995 della terapia con o senza dexrazoxane, compreso il costo del medico per trattare le pazienti con carcinoma mammario metastatico e per trattare ogni evento cardiaco intercorso. La conclusione è stata che i benefici derivanti dalla cardioprotezione determinata dal dexrazoxane superano notevolmente il costo del farmaco, considerato che gli eventi cardiotoxici da antracicline richiedono notevoli costi terapeutici aggiuntivi, soprattutto se è necessaria l'ospedalizzazione.

Il potenziale beneficio di questo farmaco, tuttavia, può essere considerato in varie altre situazioni cliniche.

I pazienti pediatrici sono particolarmente sensibili all'effetto cardiossico delle antracicline che sono largamente usate per trattare varie neoplasie infantili potenzialmente guaribili con la chemioterapia. Vari piccoli studi hanno prodotto, finora, risultati promettenti e ciò è stato di stimolo per attivare altri studi miranti a valutare la possibilità di aumentare la dose massima cumulativa di antraciclina e di prevenire l'insorgenza di cardiotoxicità tardiva che è causa di una notevole compromissione della qualità di vita e di un'aumentata mortalità.

Poiché il farmaco esercita la sua azione cardioprotettrice anche in presenza di elevate concentrazioni plasmatiche dell'antraciclina, sembrerebbe opportuno prevederne l'uso in tutte le situazioni in cui è indicato un incremento dell'intensità di dose, come nel caso dei sarcomi (76), o è prevista una maggiore cardiotossicità per la specifica associazione farmacologica usata (77, 78).

Probabilmente, il campo più interessante per lo sviluppo del dexrazoxane negli adulti riguarda la chemioterapia adiuvante e neoadiuvante. Soprattutto in pazienti con cancro della mammella, vari studi adiuvanti prevedono l'uso di antracicline a dosi elevate o l'associazione di antracicline e paclitaxel. Auspicabilmente, questi trattamenti aumenteranno la percentuale di pazienti guarite dalla chemioterapia, ma certamente un certo numero di esse andrà incontro a ricaduta della malattia. Se si è provveduto fin dall'inizio ad effettuare una cardioprotezione appropriata, i benefici per le pazienti saranno notevoli: per quelle guarite, si eviterà il possibile danno cardiaco tardivo da antracicline; per quelle ricadute, ci sarà la possibilità di utilizzare ulteriormente le antracicline, se indicate.

Il dexrazoxane, tuttavia, non svolge soltanto un'azione cardioprotettrice, ma è anche un inibitore dell'angiogenesi (79) e della topoisomerasi II (80). Quest'ultima azione appare particolarmente interessante poiché, a differenza di altri agenti quali l'etoposide, il dexrazoxane non stabilizza la formazione dei complessi clivabili tra topoisomerasi II e DNA a doppia elica e blocca l'attività della topoisomerasi II prima della formazione del complesso clivabile (81). Alcuni studi recenti (82) hanno usato il dexrazoxane per infusione continua di 96 h nell'ipotesi che sono richieste esposizioni prolungate al farmaco per ottenere la citotossicità ottimale, poiché l'inibizione della topoisomerasi II sarebbe dovuta alla molecola intatta e non ai prodotti di idrolisi. Sono in corso alcuni studi di fase I, inoltre, che mirano a valutare l'associazione di dexrazoxane con un inibitore della topoisomerasi I, quale il topotecan.

È verosimile che, con l'acquisizione di ulteriori informazioni, il dexrazoxane potrà trovare nel futuro un più vasto campo di applicazioni cliniche.

Bibliografia

- Bonadonna G, Monfardini S, De Lena M, et al.: Clinical evaluation of adriamycin, a new antitumor antibiotic. *Br Med J* 3: 503-506, 1969
- Nielsen D, Jensen JB, Dornberowsky P, et al.: Epirubicin cardiotoxicity: A study of 135 patients with advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 8: 1806-1810, 1990
- Praga C, Beretta G, Vigo PL, et al.: Adriamycin cardiotoxicity: A survey of 1273 patients. *Cancer Treat Rep* 63: 827-834, 1979
- Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, et al.: Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med* 91: 710-717, 1979
- Schwartz RG, McKenzie WB, Alexander J, et al.: Congestive heart failure and left ventricular dysfunction complicating doxorubicin therapy: a seven year experience using serial radionuclide angiocardiology. *Am J Med* 82: 1109-1118, 1987
- Speyer JL, Green MD, Zeleniuch-Jacquotte A, et al.: ICRF-187 permits longer treatment with doxorubicin in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 10: 117-127, 1992
- Praga C, Trave F, Petroccione A: Anthracycline-induced cardiotoxicity and its relevance in cancer treatment. In Nimmo WS et al. (eds.): *Clinical Measurement in Drug Evaluation*. London: Wolfe Medical Publications Ltd; 1991: 131-42
- Lipschultz SE, Colan SD, Gelber RD, et al.: Late cardiac effects of doxorubicin therapy for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *N Engl J Med* 324: 808-815, 1991
- Lipschultz SE: Dexrazoxane for protection against cardiotoxic effects of anthracyclines in children. *J Clin Oncol* 14: 326-331, 1996
- Olson RD, Boerth RC, Gerber JG, et al.: Mechanism of adriamycin cardiotoxicity: Evidence for oxidative stress. *Life Sci* 29: 1393-1401, 1981
- Handa K, Sato S: Generation of free radicals of quinone group containing anti-cancer chemicals in NADPH-microsome system as evidenced by initiation of sulfite oxidation. *Jpn J Cancer Res* 66: 43-75, 1975
- Myers C, Gianni L, Zweier J, et al.: Role of iron in adriamycin biochemistry. *Fed Proc* 45 (12): 2792-2797, 1986
- Myers CE, McGuire WP, Liss RH, et al.: Adriamycin: the role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* 197: 165-167, 1986
- Doroshov JH, Locker GY, Baldinger J, et al.: The effect of doxorubicin on hepatic and cardiac glutathione. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 26: 285-295, 1979
- Doroshov JH, Locker GY, Myers CE: Enzymatic defenses of the mouse heart against reactive oxygen metabolites: alterations produced by doxorubicin. *J Clin Invest* 65: 128-135, 1980
- Gutteridge JMC: Adriamycin-iron catalysed phospholipid peroxide: a reaction not involving reduced adriamycin or hydroxyl radicals. *Biochem Pharmacol* 32: 1949-1952, 1983
- Demant EJ: Binding of adriamycin-Fe³⁺ complex to membrane phospholipids. *Eur J Biochem* 142: 571-575, 1984
- Breed JG, Zimmerman AN, Dormans JA, et al.: Failure of the antioxidant vitamin E to protect against adriamycin-induced cardiotoxicity in the rabbit. *Cancer Res* 40: 2033-2038, 1980
- Myers CE, Bonow R, Palmeri S, et al.: A randomized controlled trial assessing the prevention of doxorubicin cardiomyopathy by N-acetyl-cysteine. *Semin Oncol* 10: 53-55, 1983
- Hasinoff BB: The iron (III) and copper (II) complexes of adriamycin promote the hydrolysis of the cardioprotective agent ICRF-187 ((+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl)propane). *Agents Actions* 29: 374-381, 1990
- Hasinoff BB, Kala SV: The removal of metal ions from transferrin, ferritin and ceruloplasmin by the cardioprotective agent ICRF-187 [[(+)-1,2bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl)propane]] and its hydrolysis product ADR-925. *Agents Actions* 39: 72-81, 1993
- Hasinoff BB: The interaction of the cardioprotective agent ICRF-187 ((+)-1,2bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl)propane); its hydrolysis product (ICRF-198); and other chelating agents with the Fe(III) and Cu(II) complexes of adriamycin. *Agents Actions* 26 (3-4): 378-385, 1989
- Buss JL, Hasinoff BB: The one-ring open hydrolysis product intermediates of the cardioprotective agent ICRF-187 (dexrazoxane) displace iron from iron-anthracycline complexes. *Agents Actions* 40: 86-95, 1993

24. Earhart RH, Tutsch KD, Koeller JM, et al.: Pharmacokinetics of (+)-1,2-di(3,5-dioxopiperazin-1-yl)propane intravenous infusions in adult cancer patients. *Cancer Res* 42: 5255-61, 1982
25. Holcenberg JS, Tutsch KD, Earhart RH, et al.: Phase I study of ICRF-187 in pediatric cancer patients and comparison of its pharmacokinetics in children and adults. *Cancer Treat Rep* 70: 703-709, 1986
26. Vogel CL, Gorowski E, Davila E, et al.: Phase I clinical trial and pharmacokinetics of weekly ICRF-187 (NSC 169780) infusion in patients with solid tumors. *Invest New Drugs* 5: 187-198, 1987
27. Hochster H, Liebes L, Wadler S, et al.: Pharmacokinetics of the cardioprotector ADR-529 (ICRF-187) in escalating doses combined with fixed-dose doxorubicin. *J Natl Cancer Inst* 84: 1725-1730, 1992
28. Basser RL, Sobol MM, Duggan G, et al.: Comparative study of the pharmacokinetics and toxicity of high-dose epirubicin with or without dexrazoxane in patients with advanced malignancy. *J Clin Oncol* 12: 1659-1666, 1994
29. Konig J, Beijnen J, Huinik WT, et al.: Pharmacokinetics of ICRF-187 and doxorubicin in patients receiving 5FU, doxorubicin and cyclophosphamide (FAC). *Proc Am Assoc Cancer Res* 33: A3159, 1992 (abstr.)
30. Jakobsen P, Sorensen B, Bastholt L, et al.: The pharmacokinetics of high-dose epirubicin and of the cardioprotector ADR-529 given together with cyclophosphamide, 5-fluorouracil, and tamoxifen in metastatic breast-cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 35: 45-52, 1994
31. Sparano J, Green M, Kramer E, et al.: Phase I trial of zinecard, adriamycin, and escalating doses of taxol in advanced breast cancer (T95-0054). *Breast Cancer Res Treat* 46: 224A, 1997
32. Robert J, Bellott R, Debled M, et al.: Lack of interference of dexrazoxane on the pharmacokinetics of doxorubicin in cancer patients. *Proc Am Soc Clin Oncol* 17: 250a, 1998 (abstr.960)
33. Herman EG, Mhatre RM, Lee IP, et al.: Prevention of the cardiotoxic effects of adriamycin and daunomycin in the isolated dog heart. *Proc Soc Exp Biol Med* 140: 234-239, 1972
34. Herman EH, Mhatre RM, Chadwick DP: Modification of some of the toxic effects of daunomycin (NSC-82,151) by pretreatment with the antineoplastic agent ICRF 159 (NSC-129, 943). *Toxicol Appl Pharmacol* 27: 517-526, 1974
35. Yeung TK, Jaenke RS, Wilding D, et al.: The protective effect of ICRF-187 against doxorubicin-induced cardiotoxicity in the rat. *Cancer Chemother Pharmacol* 30: 58-64, 1992
36. Alderton PM, Gross J, Green MD: Comparative study of doxorubicin, mitoxantrone, and epirubicin in combination with ICRF-187 (ADR-529) in a chronic cardiotoxicity animal model. *Cancer Res* 52: 194-201, 1992
37. Herman EH, Zhang J, Ferrans VJ: Comparison of the protective effects of desferrioxamine and ICRF-187 against doxorubicin-induced toxicity in spontaneously hypertensive rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 35: 93-100, 1994
38. Herman EH, Zhang J, Hasinoff BB, et al.: Comparison of the protective effects against chronic doxorubicin cardiotoxicity and the rates of iron (III) displacement reactions of ICRF-187 and other bisdiketopiperazines. *Cancer Chemother Pharmacol* 40: 400-408, 1997
39. Villani F, Galimberti M, Monti E, et al.: Effect of ICRF-187 pretreatment against doxorubicin-induced delayed cardiotoxicity in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 102: 292-299, 1990
40. Agen C, Bernardini N, Danesi R, et al.: Reducing doxorubicin cardiotoxicity in the rat using deferred treatment with ADR-529. *Cancer Chemother Pharmacol* 30: 95-99, 1992
41. Herman EH, Ferrans VJ: Pretreatment with ICRF-187 provides long-lasting protection against chronic daunorubicin cardiotoxicity in rabbits. *Cancer Chemother Pharmacol* 16: 102-6, 1986
42. Imondi AR, Della Torre P, Mazué G, et al.: Dose-response relationship of dexrazoxane for prevention of doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice, rats, and dogs. *Cancer Res* 56: 4200-4, 1996
43. Filippi J, Imondi A, Wolgemuth R: Characterization of the cardioprotective effect of (S) (+)-4,4'-propylene-2,6-piperazinedione (ICRF-187) on anthracycline cardiotoxicity. *Proceedings of the First International Symposium on the Organ Directed Toxicities of Anticancer Drugs*, Burlington, VT, 1987, p.225 (abstr.)
44. Della Torre P, Podesta A, Pinciroli G, et al.: Long-lasting effect of dexrazoxane against anthracycline cardiotoxicity in rats. *Toxicol Pathol* 24: 398-402, 1996
45. Imondi R: Preclinical models of cardiac protection and testing for effects of dexrazoxane on doxorubicin antitumor effects. *Semin Oncol* 25 (suppl. 10): 22-30, 1998
46. Verhoef V, Belli V, Filippi J: Effect of the cardioprotective agent ADR-529 (ICRF-187) on the antitumor activity of doxorubicin. *Proc Am Assoc Cancer Res* 29: 1083, 1988 (abstr.)
47. Wadler S, Green MD, Muggia FM: Synergistic activity of doxorubicin and the bisdioxopiperazine (+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazinyl-1-yl)propane (ICRF 187) against the murine sarcoma S180 cell line. *Cancer Res* 46: 1176-1181, 1986
48. Monti E, Sinha BK: Potentiation of doxorubicin cytotoxicity by (+)-1,2-bis(3,5-dioxopiperazin-1-yl)propane (ICRF-187) in human leukemic HL-60 cells. *Cancer Commun* 2: 145-149, 1990
49. Piga A, Francini G, Pein F, et al.: Cardioprotection by Cardioxane[®] (dexrazoxane) in breast cancer patients as increased risk for anthracycline-induced cardiotoxicity. *Proc Am Cancer Res* 34: 228, 1993 (abstr.)
50. Neijens V, ten Hoeve R, Valdes Olmos R, et al.: Feasibility study of the combination of high dose epirubicin and cyclophosphamide and G-CSF every two weeks together with ICRF 187. *Ann Oncol* 5 (suppl.5): 182, 1994 (abstr.)
51. Kassianenko I, Pivnjuk V, Tarutinov V, et al.: The role of cardiotoxicity protector cardioxane combined with chemotherapy with doxorubicin in advanced breast cancer. 2nd European Congress of the Senologic International Society 1994: 52 (abstr.)
52. Maral J, Vinke J, Oskam R, et al.: Cardioxane still induces effective cardioprotection in anthracycline pretreated breast cancer patients. *Eur J Cancer* 32A (suppl 2): 48, 1996
53. Orditura M, De Rimini ML, Ciaramella F, et al.: Is ICRF-187 effective against doxorubicin induced cardiotoxicity? *Med Microbiol Lett* 5 (suppl.1): S107, 1996 (abstr.)
54. Jelic S, Radulovic S, Neskovic- Kostantinovic Z, et al.: Cardioprotection with ICRF-187 (Cardioxane) in patients with advanced breast cancer having cardiac risk factors for doxorubicin cardiotoxicity, treated with the FDC regimen. *Support Care Cancer* 3: 176-182, 1995
55. Kolaric K, Bradamante V, Cerve J, et al.: A phase II trial of cardioprotection with cardioxane (ICRF-187) in patients with advanced breast cancer receiving 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide. *Oncology* 52: 251-255, 1995
56. ten Bokkel Huinink WW, Schreuder JE, Dubbelman R, et al.: ICRF 187 protects against doxorubicin induced cardiomyopathy in paediatric osteosarcoma patients. *Proc Am Soc Clin Oncol* 14: 440, 1995 (abstr. 1403)
57. Speyer JL, Green MD, Kramer E, et al.: Protective effect of the bispiperazinedione ICRF-187 against doxorubicin-in-

- duced cardiac toxicity in women with advanced breast cancer. *N Engl J Med* 319: 745-752, 1988
58. Venturini M, Michelotti A, Del Mastro L, et al.: Multicenter randomized controlled clinical trial to evaluate cardioprotection of dexrazoxane versus no cardioprotection in women receiving epirubicin-chemotherapy for advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 14: 3112-3120, 1996
59. Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, et al.: Cardioprotection with dexrazoxane for doxorubicin-containing therapy in advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 15: 1318-1332, 1997
60. Swain SM, Whaley FS, Gerber MC, et al.: Delayed administration of dexrazoxane provides cardioprotection for patients with advanced breast cancer treated with doxorubicin-containing therapy. *J Clin Oncol* 15: 1333-1340, 1997
61. Lopez M, Vici P, Di Lauro L, et al.: Randomized prospective clinical trial of high-dose epirubicin and dexrazoxane in patients with advanced breast cancer and soft tissue sarcomas. *J Clin Oncol* 16: 86-92, 1998
62. Hortobagyi GN, Frye D, Buzdar AU, et al.: Decreased cardiac toxicity of doxorubicin administered by continuous intravenous infusion in combination chemotherapy for metastatic breast carcinoma. *Cancer* 63: 37-45, 1989
63. Tjuljandin SA, Doig RG, Sobol MM, et al.: Pharmacokinetics and toxicity of two schedules of high dose epirubicin. *Cancer Res* 50: 5095-5101, 1990
64. Neri B, Pacini P, Algeri R, et al.: Conventional versus high-dose epirubicin as single agent in advanced breast cancer. *Cancer Invest* 11: 106-112, 1993
65. Carriò J, Estorch M, Berna L, et al.: Assessment of anthracycline-induced myocardial damage by quantitative indium-111 myosin specific monoclonal antibody studies. *Eur J Med* 18: 806-812, 1991
66. Lopez M, Vici P: European trials with dexrazoxane in amelioration of doxorubicin and epirubicin-induced cardiotoxicity. *Semin Oncol* 25 (suppl.10): 55-60, 1998
67. Bu'Lock FA, Gabriel HM, Oakhill A, et al.: Cardioprotection by ICRF 187 against high dose anthracycline toxicity in children with malignant disease. *Br Heart J* 70: 185-88, 1993
68. Rubio ME, Wiegman A, Naeff MSJ, et al.: ICRF-187 protection against doxorubicin induced cardiomyopathy in paediatric osteosarcoma patients. *Med Pediatr Oncol* 25: 292, 1995 (abstr.)
69. Wexler LH, Andrich MP, Venzon D, et al.: Randomized trial of the cardioprotective agent ICRF-187 in pediatric sarcoma patients treated with doxorubicin. *J Clin Oncol* 14: 362-72, 1996
70. Lemez P, Maresová J: Protective effects of cardioxane against anthracycline-induced cardiotoxicity in relapsed acute myeloid leukemias. *Neoplasma* 43 (6): 417-9, 1996
71. Schiavetti A, Castello MA, Versacci P, et al.: Use of ICRF-187 for prevention of anthracycline cardiotoxicity in children: preliminary results. *Pediatr Hematol Oncol* 14: 213-222, 1997
72. Schuler D, Horvath E, Koos R, et al.: Safety of dexrazoxane in children with ALL undergoing anthracycline therapy: preliminary results of a prospective pilot study. *Pediatr Hematol Oncol* 14: 93-94, 1997
73. Grenier MA, Lipschultz SE: Epidemiology of anthracycline cardiotoxicity in children and adults. *Semin Oncol* 25 (suppl.10): 72-85, 1998
74. Bates M, Lieu D, Zagari M, et al.: A pharmacoeconomic evaluation of the use of dexrazoxane in preventing anthracycline-induced cardiotoxicity in patients with stage IIIB or IV metastatic breast cancer. *Clin Ther* 19: 167-184, 1997
75. Bates M, Tasch, Williamson T, et al.: Cost effectiveness of dexrazoxane cardioprotection in patients receiving FAC chemotherapy: a comparison between the US and Canada. 13th Annual International Meeting of the International Society of Technology Assessment in Health Care 25: 137, 1997
76. Picci P, Ferrari S, Bacci G, et al.: Treatment recommendations for osteosarcoma and adult soft tissue sarcomas. *Drugs* 47: 82-92, 1994
77. Dombernowski P, Boesgaard M, Anderson E, et al.: Doxorubicin plus paclitaxel in advanced breast cancer. *Semin Oncol* 24 (suppl. 17): 15-8, 1997
78. Gianni L, Munzone E, Capri G, et al.: Paclitaxel by 3-hour infusion in combination with bolus doxorubicin in women with untreated metastatic breast cancer: high antitumor efficacy and cardiac effects in a dose-finding and sequence-finding study. *J Clin Oncol* 1995: 2688-2699, 1995
79. LeServe A, Hellmann K: Metastases and the normalization of tumor blood vessels with ICRF-159: A new type of drug action. *BNJ* 47: 1959-1962, 1972
80. Tanabe K, Ikegami Y, Ishida R, et al.: Inhibition of topoisomerase II by antitumor agents bis(2,6-dioxipiperazine) derivatives. *Cancer Res* 51 (18): 4903-4908, 1991
81. Ishida R, Miki T, Narita T, et al.: Inhibition of intracellular topoisomerase II by antitumor bis(2,6-dioxipiperazine) derivatives: Mode of cell growth inhibition distinct from that of cleavable complex-forming type inhibitors. *Cancer Res* 51: 4909-4916, 1991
82. Synold TW, Tetef ML, Doroshow JH: Antineoplastic activity of continuous exposure to dexrazoxane: Potential new role as a novel topoisomerase II inhibitor. *Semin Oncol* 25 (suppl.10): 93-99, 1998